



SKRIPSI-SK141501

**PENGARUH PENAMBAHAN BAKTERI
Ralstonia pickettii TERHADAP
BIODEGRADASI DDT OLEH JAMUR
PELAPUK PUTIH *Ganoderma lingzhi***

**EKA PRATIWI YUNIARTI
NRP 1412 100 101**

**Dosen Pembimbing I
Adi Setyo Purnomo, M.Sc., Ph.D.**

**Dosen Pembimbing II
Drs. Refdinal Nawfa, MS.**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2016**



SCRIPT-SK141501

**THE EFFECT OF ADDITION OF BACTERIA
Ralstonia pickettii ON BIODEGRADATION
DDT BY WHITE ROT FUNGUS *Ganoderma
lingzhi***

**EKA PRATIWI YUNIARTI
NRP 1412 100 101**

**Supervisor I
Adi Setyo Purnomo, M.Sc., Ph.D.**

**Supervisor II
Drs. Refdinal Nawfa, MS.**

**DEPARTMENT OF CHEMISTRY
FACULTY OF MATHEMATICS AND NATURAL SCIENCES
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2016**

LEMBAR PENGESAHAN

PENGARUH PENAMBAHAN BAKTERI *Ralstonia pickettii* TERHADAP BIODEGRADASI DDT OLEH JAMUR PELAPUK PUTIH *Ganoderma lingzhi*

SKRIPSI

Disusun oleh:

EKA PRATIWI YUNIARTI
NRP 1412 100 101

Surabaya, 20 November 2015

Menyetujui,

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II


Adi Setyo Purnomo, M.Sc., Ph.D.
NIP 19800724 200812 1 002


Drs. Refdinal Nawfa, MS
NIP 19580425 198701 1 001


Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia


Prof. Dr. Didik Prasetyoko, S.Si., M.Sc.
NIP 19710616 199703 1 002

**PENGARUH PENAMBAHAN BAKTERI *Ralstonia pickettii*
TERHADAP BIODEGRADASI DDT OLEH JAMUR
PELAPUK PUTIH *Ganoderma lingzhi***

Nama : Eka Pratiwi Yuniarti
NRP : 1412 100 101
Jurusan : Kimia FMIPA - ITS
Dosen Pembimbing I : Adi Setyo Purnomo, M.Sc., Ph.D.
Dosen Pembimbing II : Drs. Refdinal Nawfa, MS.

Abstrak

Pengaruh penambahan bakteri *Ralstonia pickettii* terhadap biodegradasi DDT oleh jamur pelapuk putih *Ganoderma lingzhi* telah diteliti. *R. pickettii* ditambahkan ke dalam 10 mL kultur *G. lingzhi* masing-masing sebesar 1, 3, 5, 7, dan 10 mL (1 mL \approx $1,337 \times 10^9$ sel). Degradasi DDT tertinggi ditunjukkan pada penambahan 7 mL *R. pickettii* dengan jumlah degradasi sebesar 92,85% sedangkan jumlah degradasi DDT terendah terjadi pada penambahan 1 mL *R. pickettii* dengan jumlah degradasi sebesar 3,61%. Metabolit produk yang dihasilkan dari proses degradasi ini adalah DDD, DDMU, dan DDA.

Kata kunci: *Biodegradasi, Ganoderma lingzhi, Ralstonia pickettii, DDT.*

THE EFFECT OF ADDITION OF *Ralstonia pickettii* ON BIODEGRADATION OF DDT BY WHITE ROT FUNGUS

Ganoderma lingzhi

Name : Eka Pratiwi Yuniarti
NRP : 1412 100 101
Department : Kimia FMIPA - ITS
Supervisor I : Adi Setyo Purnomo, M.Sc., Ph.D.
Supervisor II : Drs. Refdinal Nawfa, MS.

Abstract

Effect of addition of bacteria *Ralstonia pickettii* on biodegradation of DDT by white-rot fungus *Ganoderma lingzhi* had been investigated. *R. pickettii* was added into 10 mL *G. lingzhi* culture at 1, 3, 5, 7, and 10 mL (1 mL $\approx 1,337 \times 10^9$ cells). The addition of 7 mL of *R. pickettii* showed the highest DDT degradation about 92,85%, while the addition of 1 mL of *R. pickettii* showed the lowest one about 3,61%. Metabolite products of degradation process were DDD, DDMU, and DDA.

Keywords: *Biodegradation, Ganoderma lingzhi, Ralstonia pickettii, DDT.*

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga naskah skripsi yang berjudul **“Pengaruh Penambahan Bakteri *Ralstonia pickettii* terhadap Biodegradasi DDT oleh Jamur Pelapuk Putih *Ganoderma lingzhi*”** dapat terselesaikan. Ucapan terima kasih terutama disampaikan kepada :

1. Adi Setyo Purnomo, M.Sc, Ph.D selaku Dosen Pembimbing I dan Dosen Wali yang telah memberikan pengarahan, bimbingan, dan dukungan selama proses penyusunan naskah skripsi ini
2. Drs. Refdinal Nawfa, MS. selaku Dosen Pembimbing II dan Kepala Laboratorium Kimia Mikroorganisme yang telah membimbing dan memberikan izin penggunaan laboratorium
3. Prof. Dr. Didik Prasetyoko, S.Si., M.Sc. selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA ITS atas fasilitas dan pengarahan yang diberikan selama ini
4. Keluarga saya yang selalu memberikan semangat, dukungan dan doa untuk saya
5. Sahabat saya PURIK, teman-teman mahasiswa Kimia FMIPA, SPECTRA, dan teman-teman laboratorium mikroorganisme yang selalu membantu, memberikan semangat, doa dan dukungannya
6. Semua pihak yang telah membantu yang tidak mungkin saya sebutkan satu persatu

Semoga skripsi ini memberikan manfaat, baik bagi penulis maupun pembaca dalam upaya menambah wawasan tentang ilmu kimia.

Surabaya, 22 Januari 2016

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Batasan Masalah.....	4
1.4 Tujuan Penelitian.....	4
1.5 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Pestisida.....	7
2.2 <i>Dichloro Diphenyl Trichloroethane</i> (DDT).....	9
2.3 Bioremediasi.....	13
2.4 Biodegradasi.....	17
2.5 Jamur Pelapuk Putih.....	18
2.6 <i>Ganoderma lingzhi</i>	19
2.7 <i>Ralstonia pickettii</i>	22
2.8 Metode Analisis.....	25
2.8.1 Spektrofotometri UV-Vis.....	25
2.8.2 Ekstraksi Cair-Cair.....	26

2.8.3 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi.....	30
2.8.4 Kromatografi Gas – Spektroskopi Massa (GC-MS)...	31
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	33
3.1 Alat dan Bahan.....	33
3.1.1 Alat.....	33
3.1.2 Bahan.....	33
3.2 Prosedur Penelitian.....	34
3.2.1 Regenerasi Jamur <i>Ganoderma lingzhi</i>	34
3.2.2 Persiapan Kultur Cair Jamur <i>G. lingzhi</i>	34
3.2.3 Regenerasi Bakteri <i>Ralstonia pickettii</i>	34
3.2.4 Pembuatan Kurva Pertumbuhan <i>R. pickettii</i>	34
3.2.5 Persiapan Kultur Cair Bakteri <i>R. pickettii</i>	34
3.2.6 Pembuatan Kurva Standar DDT	35
3.2.7 Biodegradasi DDT oleh Jamur <i>G. lingzhi</i>	35
3.2.8 Biodegradasi DDT oleh Bakteri <i>R. pickettii</i>	35
3.2.9 Pengaruh Penambahan <i>R. pickettii</i> terhadap Biodegradasi DDT oleh <i>G. lingzhi</i>	36
3.2.10 Perolehan Kembali (<i>Recovery</i>) DDT.....	36
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	39
4.1 Kultur Jamur <i>Ganoderma lingzhi</i>	39
4.1.1 Regenerasi Jamur <i>G. lingzhi</i>	39
4.1.2 Persiapan Kultur Cair Jamur <i>G. lingzhi</i>	40
4.2 Kultur Bakteri <i>Ralstonia pickettii</i>	41
4.2.1 Regenerasi Bakteri <i>R. pickettii</i>	41

4.2.2 Kurva Pertumbuhan <i>R. picketti</i>	42
4.2.3 Persiapan Kultur Cair Bakteri <i>R. pickettii</i>	45
4.3 Kurva Standar DDT.....	45
4.4 Proses dan Hasil Biodegradasi DDT	48
4.4.1 Biodegradasi DDT oleh <i>G. lingzhi</i>	48
4.4.2 Biodegradasi DDT oleh <i>R. pickettii</i>	63
4.4.3 Pengaruh Penambahan <i>R. pickettii</i> terhadap Biodegradasi DDT oleh <i>G. lingzhi</i>	67
4.4.4 Jalur Degradasi	76
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	77
5.1 Kesimpulan.....	77
5.2 Saran.....	77
DAFTAR PUSTAKA.....	79
LAMPIRAN	85
BIODATA PENULIS.....	91

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Kimia DDT	10
Gambar 2.2 Struktur Kimia Metabolit Produk yang Terbentuk dari Jalur Biodegradasi Utama pada Mikroorganisme	12
Gambar 2.3 <i>Ganoderma lingzhi</i>	20
Gambar 2.4 Jalur Degradasi DDT oleh Jamur <i>P. chrysosporium</i>	22
Gambar 2.5 <i>Ralstonia pickettii</i>	24
Gambar 2.6 Prinsip Kerja Spektrofotometri UV-Vis	26
Gambar 2.7 Prinsip Kerja HPLC	31
Gambar 2.8 Prinsip Kerja GC-MS	32
Gambar 4.1 Regenerasi Jamur <i>G. lingzhi</i> (a) Setelah 3 Hari Regenerasi; (b) Setelah 7 Hari Regenerasi	40
Gambar 4.2 Regenerasi Bakteri <i>R. pickettii</i> Setelah 24 Jam	42
Gambar 4.3 Kurva Pertumbuhan <i>R. pickettii</i>	44
Gambar 4.4 Kurva Standar DDT	47
Gambar 4.5 Proses Inkubasi Sampel Degradasi DDT oleh <i>G. lingzhi</i>	49
Gambar 4.6 Kromatogram HPLC Jamur <i>G. lingzhi</i>	51
Gambar 4.7 Kromatogram GC Jamur <i>G. lingzhi</i>	52
Gambar 4.8 Spektra MS Piren dalam Database	53
Gambar 4.9 Spektra MS Piren Hasil Analisis Sampel <i>G. lingzhi</i>	54
Gambar 4.10 Spektra MS DDT dalam Database	55
Gambar 4.11 Spektra MS DDT Hasil Analisis Sampel <i>G. lingzhi</i>	56
Gambar 4.12 Spektra MS DDE dalam Database	57
Gambar 4.13 Spektra MS DDE Hasil Analisis Sampel <i>G. lingzhi</i>	58
Gambar 4.14 Spektra MS DDD dalam Database	59
Gambar 4.15 Spektra MS DDD Hasil Analisis Sampel <i>G. lingzhi</i>	60
Gambar 4.16 Spektra MS DDA dalam Database	61

Gambar 4.17 Spektra MS DDA Hasil Analisis Sampel <i>G. lingzhi</i>	62
Gambar 4.18 Kromatogram HPLC Bakteri <i>R. pickettii</i>	64
Gambar 4.19 Kromatogram GC Bakteri <i>R. pickettii</i>	64
Gambar 4.20 Spektra MS DDE Hasil Analisis Sampel <i>R. pickettii</i>	66
Gambar 4.21 Proses Inkubasi Sampel Degradasi Campuran (Bakteri dan Jamur)	67
Gambar 4.22 Grafik Degradasi DDT oleh <i>G. lingzhi</i> dengan Penambahan Bakteri <i>R. pickettii</i>	68
Gambar 4.23 Kromatogram HPLC Campuran <i>G. lingzhi</i> dengan <i>R. pickettii</i> pada Konsentrasi 7 ml	70
Gambar 4.24 Kromatogram GC Campuran <i>G. lingzhi</i> dengan <i>R.</i> <i>pickettii</i> pada Konsentrasi 7 ml	70
Gambar 4.25 Spektra MS DDD Hasil Analisis Sampel Campuran	72
Gambar 4.26 Spektra MS DDA Hasil Analisis Sampel Campuran	73
Gambar 4.27 Spektra MS DDMU dalam Database	74
Gambar 4.28 Spektra MS DDMU Hasil Analisis Sampel Campuran	75
Gambar 4.29 Jalur Degradasi DDT oleh <i>G. lingzhi</i> , <i>R. pickettii</i> , dan Campuran Keduanya	76

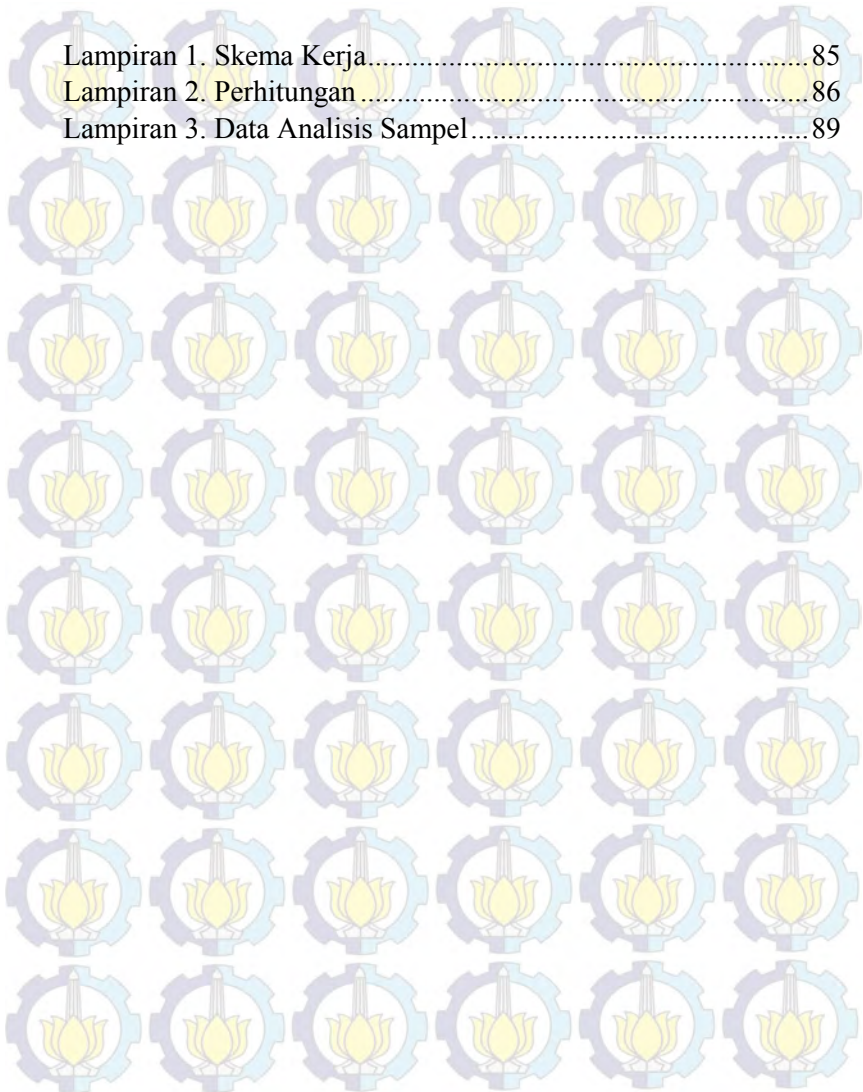
DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan Nutrisi <i>G. lingzhi</i>	21
Tabel 4.1 Data Kurva Standar DDT	46
Tabel 4.2 Data Degradasi oleh Bakteri <i>R. pickettii</i>	63
Tabel 4.3 Data Degradasi DDT oleh <i>G. lingzhi</i> dengan Penambahan Bakteri <i>R. pickettii</i>	68



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja.....	85
Lampiran 2. Perhitungan.....	86
Lampiran 3. Data Analisis Sampel.....	89



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

DDT (*Dichloro Diphenyl Trichloroethane*) adalah insektisida organik sintetik yang pertama kali ditemukan, dan digunakan secara luas sejak tahun 1940. *World Health Organization* (WHO) memperkirakan bahwa selama Perang Dunia II, DDT telah menyelamatkan sekitar 25 juta jiwa dengan membunuh serangga penyebar penyakit malaria dan tifus (Tarumingkeng, 2007). Penggunaan DDT akhirnya berkembang tidak hanya di bidang kesehatan, namun juga di bidang pertanian. Penemuan DDT merupakan awal dari pengembangan senyawa kimia dari kelompok atau kelas hidrokarbon berklor (*chlorinated hydrocarbon*) (Djojosumarto, 2006). *Chlorinated hydrocarbon* merupakan senyawa yang terdiri dari karbon (sehingga disebut organo), klor, dan hidrogen (Tarumingkeng, 1989). Pestisida ini memiliki sifat volatilitas yang rendah, stabil, dan larut dalam lemak. DDT sangat lambat dalam hal biotransformasi dan biodegradasi sehingga pestisida ini sangat efektif untuk membasmi hama, namun sebaliknya juga sangat berbahaya bagi manusia maupun hewan. DDT memiliki waktu paruh 10-20 tahun sehingga dapat terakumulasi dan termagnifikasi dalam rantai makanan.

DDT adalah insektisida paling ampuh yang pernah ditemukan dan digunakan manusia dalam membunuh serangga, tetapi juga paling berbahaya bagi umat manusia, sehingga dijuluki "*The Most Famous and Infamous Insecticide*". Demikian berbahayanya DDT bagi kehidupan di bumi, sehingga atas rekomendasi EPA (*Environmental Protection Agency*) Amerika Serikat pada tahun 1972, DDT dilarang digunakan terhitung 1 Januari 1973. Dari segi bahayanya, DDT digolongkan dalam bahan racun PBT (*persistent, bioaccumulative, and toxic*). Walaupun di negara-negara maju penggunaan DDT telah dilarang, di negara-negara berkembang DDT masih digunakan. Di

Indonesia sendiri, Departemen Pertanian Republik Indonesia telah melarang penggunaan DDT di bidang pertanian, sedangkan larangan penggunaan DDT di bidang kesehatan dilakukan pada tahun 1995. Komisi Pestisida Republik Indonesia juga sudah tidak memberi perijinan bagi penggunaan pestisida golongan hidrokarbon berklor (Tarumingkeng, 2007).

Dampak dari penggunaan DDT sangat merugikan lingkungan dan makhluk hidup, sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mendegradasi DDT. DDT banyak ditemukan di Indonesia baik sebagai pestisida di bidang pertanian maupun sebagai pembasmi serangga penyebab malaria di bidang kesehatan. Data penggunaan DDT di bidang pertanian sampai saat ini masih belum ditemukan. Sedangkan data penggunaan DDT di bidang kesehatan menunjukkan bahwa penggunaan DDT pada tahun 1974-1982 sebanyak 2565,7 ton per tahun dengan kapasitas DDT yang boleh digunakan di Indonesia yaitu sebanyak 7000 ton per tahun. Selain itu juga dilakukan penelitian pada lingkungan abiotik (air, sedimen, tanah, udara), lingkungan biotik (ikan dan kerang), dan bahan-bahan makanan (UNIDO, 1984). Pada lingkungan abiotik, DDT cenderung terakumulasi pada air dan sedimen. Pada lingkungan biotik, banyak ditemukan DDT pada ikan dan kerang. Hal ini disebabkan oleh tempat hidup ikan dan kerang (sungai) banyak mengandung DDT. Pada bahan makanan, diperoleh hasil yang menunjukkan DDT yang terakumulasi pada sayuran ($14-4400 \text{ ng g}^{-1}$ berat basah), otot ayam ($7,1-4000 \text{ ng g}^{-1}$ berat basah), telur (8800 ng g^{-1}), daging babi (47 ng g^{-1}), dan ikan ($29-700 \text{ ng g}^{-1}$). Dari data yang diperoleh menunjukkan sifat persistensi DDT sehingga dengan akumulasi DDT pada lingkungan sulit untuk dihilangkan (Sudaryanto dkk., 2007).

Degradasi DDT sudah banyak dilakukan baik secara fisika, kimia, maupun biologi. Namun, metode yang dianggap paling murah, efektif, aman, dan ramah lingkungan yaitu metode biodegradasi. Penelitian biodegradasi menggunakan mikroorganisme juga sudah banyak dilakukan, baik menggunakan

bakteri maupun jamur. Beberapa mikroorganisme yang sudah pernah digunakan untuk mendegradasi DDT yaitu *Chryseobacterium sp.* (Qu dkk., 2015), *Xerocomus chrysenteron* (Huang dan Wang, 2013), *Pleurotus ostreatus* (Purnomo dkk., 2010), *Phanerochaete chrysosporium* (Bumpus dkk., 1987), dan *Pseudomonas aeruginosa* (Ashari, 2014). Pada penelitian ini biodegradasi dilakukan dengan memanfaatkan jamur pelapuk putih (*white rot fungus*) yaitu *Ganoderma lingzhi*. Jamur pelapuk putih dikenal lebih efektif dalam mendegradasi lignin dibandingkan dengan jamur lainnya, karena mempunyai enzim ligninolitik yang dapat digunakan untuk mendegradasi lignin. Jamur ini dapat memproduksi enzim lignin peroksidase, mangan peroksidase, dan lakase yang berfungsi mendegradasi lignin yang mempunyai struktur kimia mirip dengan polutan organik. Persamaan struktur DDT dan struktur lignin yang memiliki gugus aromatik ini lah yang menyebabkan jamur *G. lingzhi* (*white rot fungus*) dianggap mampu mendegradasi DDT yang strukturnya lebih sederhana dibandingkan dengan lignin. Jamur *G. lingzhi* ini telah terbukti mendegradasi beberapa polutan seperti insektisida organofosfat diazinon (Marlinasari, 2008), phenanthrene, piren (Ting dkk., 2011) dan dekolorisasi beberapa pewarna seperti pewarna reaktif (Murugesan dkk., 2007) dan pewarna langsung (Bhatti dkk., 2008).

Penelitian ini tidak hanya memanfaatkan jamur saja dalam proses degradasinya, melainkan juga memanfaatkan bakteri dari kelas *Ralstonia* atau *Pseudomonas* yaitu *Ralstonia pickettii* atau *Pseudomonas picketti*. Bakteri gram negatif ini memiliki nilai kompleksitas enzim yang tinggi. Bakteri aerob ini terkenal dapat bertahan hidup di lingkungan yang tercemar dengan kondisi nutrisi terbatas, sehingga *R. pickettii* diharapkan mampu mendegradasi polutan xenobiotik, khususnya DDT. Terdapat beberapa penelitian yang menyatakan bahwa *R. pickettii* terbukti mampu mendegradasi beberapa polutan seperti toluena dan trikloroetilena sebagai limbah industri (Ryan dkk., 2007) serta limbah minyak dan fenol (Mahiuddin, 2012).

Berdasarkan uraian di atas, pada penelitian ini digunakan jamur pelapuk putih *G. lingzhi* untuk biodegradasi DDT dan juga dikombinasikan dengan bakteri *R. pickettii* untuk mengetahui pengaruh penambahan bakteri terhadap biodegradasi DDT oleh jamur *G. lingzhi*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, adapun permasalahan yang diangkat pada penelitian ini adalah dampak DDT yang sangat berbahaya bagi lingkungan, sehingga perlu dilakukan proses degradasi. Degradasi yang dilakukan pada penelitian ini adalah degradasi secara biologi (biodegradasi) yang memanfaatkan mikroorganisme yaitu *G. lingzhi* dan *R. pickettii*. Penggunaan *G. lingzhi* pada biodegradasi ini dikarenakan jamur ini memiliki kemampuan untuk mendegradasi beberapa polutan, tetapi belum pernah digunakan untuk mendegradasi DDT, sehingga perlu dilakukan penelitian. Selain itu, penambahan bakteri *R. pickettii* yang memberikan efek positif pada biodegradasi ini juga perlu diteliti.

1.3 Batasan Masalah

Penelitian ini dibatasi pada penambahan bakteri *R. pickettii* yang ditambahkan ke dalam 10 mL kultur *G. lingzhi* untuk proses degradasi dengan variasi konsentrasi 1, 3, 5, 7, dan 10 mL ($1 \text{ mL} \approx 1,337 \times 10^9$ sel) dimana proses degradasi dilakukan dalam waktu 7 hari dengan volume total campuran antara jamur dan bakteri yaitu 20 ml. Variabel yang dianalisis adalah jumlah DDT yang terdegradasi serta analisis metabolit produk yang dihasilkan selama proses biodegradasi DDT.

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Untuk mengetahui pengaruh penambahan bakteri *R. pickettii* pada proses biodegradasi DDT oleh jamur *G. lingzhi*
2. Untuk mengidentifikasi metabolit produk yang dihasilkan selama proses biodegradasi DDT

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Memberikan data ilmiah mengenai kemampuan *G. lingzhi* dalam mendegradasi DDT
2. Memberikan data ilmiah tentang pengaruh penambahan bakteri *R. pickettii* pada proses biodegradasi DDT oleh jamur *G. lingzhi*
3. Memberikan referensi dalam bidang degradasi DDT dengan memanfaatkan jamur pelapuk putih, *G. lingzhi*, sebagai metode murah, aman, dan efektif

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pestisida

Kata pestisida berasal dari kata *pest* yang berarti hama dan *cida* yang berarti pembunuh. Pestisida adalah substansi atau semua bahan kimia, fisik, atau biologi yang dapat digunakan untuk membunuh atau mengendalikan berbagai hama binatang atau tanaman pengganggu (Yuantari, 2011). Menurut Permenkes RI No.258/Menkes/Per/III/1992 pestisida adalah semua zat kimia atau bahan lain serta jasad renik dan virus yang digunakan untuk memberantas atau mencegah hama-hama dan penyakit yang merusak tanaman, memberantas gulma, mengatur atau merangsang pertumbuhan tanaman, mematikan dan mencegah hama. Sedangkan menurut US *Environmental Protection Agency* (US EPA) pestisida adalah semua substansi atau campuran substansi yang digunakan untuk mencegah, menghancurkan, mengusir (*repelling*) suatu hama (*pest*).

Pestisida diperkenalkan untuk pertama kalinya oleh bangsa Cina pada tahun 900 M, dengan memakai senyawa arsenat. Setelah menggunakan pestisida ultra tradisional ini, bangsa Cina menunjukkan kemajuan yang sangat pesat di bidang pertanian. Tahun 1942 merupakan awal dari gerakan revolusi kimia dalam bidang pertanian, dimana pada tahun tersebut telah berhasil diciptakan suatu pestisida buatan (sintetis) yang merupakan suatu bentuk persenyawaan yang memiliki gugus aktif. Pestisida pertama yang dibuat adalah pestisida dengan senyawa aktif DDT (*Dichloro Diphenyl Trichloroethane*) yang kemudian diikuti oleh bermacam-macam jenis lainnya. Ternyata, senyawa aktif yang merupakan senyawa kimia majemuk dan memiliki daya racun sangat tinggi yang dimiliki oleh pestisida DDT dan DDE (produksi pecahan pertama dari DDT) tidak dapat terurai dalam beberapa tahun. Pestisida tersebut tidak larut dalam air, akan tetapi larut pada lemak dan senyawa lipid lainnya serta menempel kuat pada partikel-partikel, sehingga perlakuan-

perlakuan pertanian dengan menggunakan DDT dan DDE sebagai pestisida di kemudian hari mengakibatkan keracunan terhadap manusia yang mengkonsumsi hasilnya (Palar, 1994).

Di Indonesia, penggunaan pestisida telah dilakukan sejak sebelum perang dunia II untuk mengendalikan organisme pengganggu tumbuhan (OPT). Penggunaan di sub sektor tanaman pangan dan hortikultura meningkat sangat pesat sejak dilakukan program bimbingan masal (Bimas) tanaman padi pada akhir dasawarsa 1960-an. DDT merupakan pestisida pertama yang dikenalkan di lingkup pertanian. Namun, penggunaan DDT dilarang pada tahun 1993 karena sifat persistensinya (Wudianto, 1997).

Terdapat banyak penggolongan pestisida seperti menurut Kementerian Pertanian (2010) yang dibagi berdasarkan bahan aktifnya (contoh: Amidin, Urea, dan sebagainya). Menurut *World Health Organization* (WHO) mengklasifikasikan pestisida atas dasar toksisitas dalam bentuk formulasi padat dan cair. Penggolongan pestisida berdasarkan sifat dasar senyawa kimianya (anorganik dan organik). Pestisida (insektisida) organik masih dapat dibagi menjadi insektisida organik alami dan insektisida organik sintetik. Pembagian insektisida organik sintetik menurut susunan kimia bahan aktif (senyawa yang memiliki sifat racun) terdiri dari 4 kelompok besar yaitu organoklorin, organofosfat, karbamat, dan piretroid sintetik. Piretroid merupakan kelompok insektisida organik sintetik konvensional yang paling baru, digunakan secara luas sejak tahun 1970-an dengan keunggulan dapat menjatuhkan serangga dengan cepat dan memiliki tingkat toksisitas rendah bagi manusia.

Berdasarkan toksisitas dan golongan, pestisida organik sintetik dapat digolongkan menjadi :

1. Golongan Organoklorin.

- a. Toksisitas tinggi (*extremely toxic*): Endrin (Heksadrin)
- b. Toksisitas sedang (*moderate toxic*): Aldrin, Dieldrin, DDT, Benzen, Brom Heksaklorida (BHC), Heptaklor, dan sebagainya.

2. Golongan Organofosfat

a. Sangat toksik: Forat, Paration, Klorpirifos (Dursban), Metamidofos, Fosfamidon, dan sebagainya.

b. Toksisitas sedang: Dimetoat, Malation

3. Golongan Karbamat

a. Toksisitas tinggi: Temik, Karbofuran, Metomil

b. Toksisitas sedang: Baygon, Landrin, Karbaril

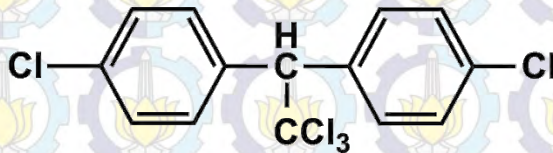
Dalam bidang pertanian sangat banyak jenis pestisida yang digunakan dengan beberapa jenis pestisida yang terbanyak digunakan adalah sebagai berikut: Insektisida (Serangga), Fungisida (Fungi), Herbisida (Gulma), Akarisida (Tungu, caplak, laba-laba), Moluskisida (Moluska), Pedukulisida (Kutu), Larvasida (Ulat), Nematisida (Nematoda), Bakterisida (Bakteri), Pisisida (Ikan Mujair (hama tambak)), Algisida (Ganggang), Avisida (Burung), Silvisida (Pohon), Ovisida (Telur), Piscisida (Predator), Termisida (Rayap), Arborisida (Pohon, semak, belukar), Predasida (Hama vertebrata), Mitisida (*Miticides*), Scabisida (*Scabicides*), *Attractans* (*pheromons*), *Defoliants*, Pengatur pertumbuhan tanaman (*Plant Grow Regulator*), dan Pengusir serangga (*Repellants*) (Wudianto, 1997).

Pestisida golongan organoklorin merupakan pestisida dengan senyawa yang terdiri dari karbon (sehingga disebut organo), klor, dan hidrogen (Tarumingkeng, 1989). Pestisida ini memiliki sifat volatilitas yang rendah, stabil, larut dalam lemak, dan sangat lambat dalam hal biotransformasi dan biodegradasi sehingga pestisida ini sangat efektif untuk membasmi hama, namun sebaliknya juga sangat berbahaya bagi manusia maupun hewan karena dapat terakumulasi dan termagnifikasi dalam rantai makanan.

2.2 *Dichloro Diphenyl Trichloroethane* (DDT)

Dichloro Diphenyl Trichloroethane (DDT) adalah insektisida organik sintetik golongan organoklorin (*chlorinated hydrocarbon*) dengan struktur seperti pada Gambar 2.1. DDT digunakan untuk pemberantasan lalat, nyamuk, tuma, pinjal dan kutu busuk. DDT disintesis oleh Othmar Zeidler pada tahun

1873, namun efek insektisidanya baru ditemukan oleh Paul Muller pada tahun 1939 di Swiss (Djojsumarto, 2006) (Tarumingkeng, 2007). Kemudian diuji secara resmi di Wadenswil (Jerman) dan di Swedia (1946). Selanjutnya, DDT dikembangkan oleh R. Weismann dari perusahaan J.R. Geigy. Oleh karena efikasinya yang sangat baik, DDT menjadi sangat terkenal di bidang pertanian dan bidang kesehatan masyarakat, dan digunakan secara luas sejak tahun 1945.



Gambar 2.1 Struktur Kimia DDT

DDT sempat dijuluki *the wonder chemical*, yang menyelamatkan ribuan hektar tanaman dari serangan hama serangga (Djojsumarto, 2006). DDT adalah insektisida paling ampuh yang pernah ditemukan dan digunakan manusia dalam membunuh serangga, tetapi juga paling berbahaya bagi umat manusia, sehingga dijuluki "*The Most Famous and Infamous Insecticide*". Pada tahun 1962, Rachel Carson dalam bukunya yang terkenal, *Silent Spring* menjuluki DDT sebagai obat yang membawa kematian bagi kehidupan di bumi.

Demikian berbahayanya DDT bagi kehidupan di bumi, sehingga atas rekomendasi EPA (*Environmental Protection Agency*) Amerika Serikat pada tahun 1972, DDT dilarang digunakan terhitung 1 Januari 1973. Dari segi bahayanya, DDT digolongkan dalam bahan racun PBT (*persistent, bioaccumulative, and toxic*) material. Walaupun di negara-negara maju penggunaan DDT telah dilarang, di negara-negara berkembang DDT masih digunakan, termasuk di Indonesia. Penggunaan DDT di Indonesia tidak berlangsung lama karena pada tahun 1995, Departemen Pertanian RI telah melarang penggunaan DDT di bidang pertanian dan bidang kesehatan.

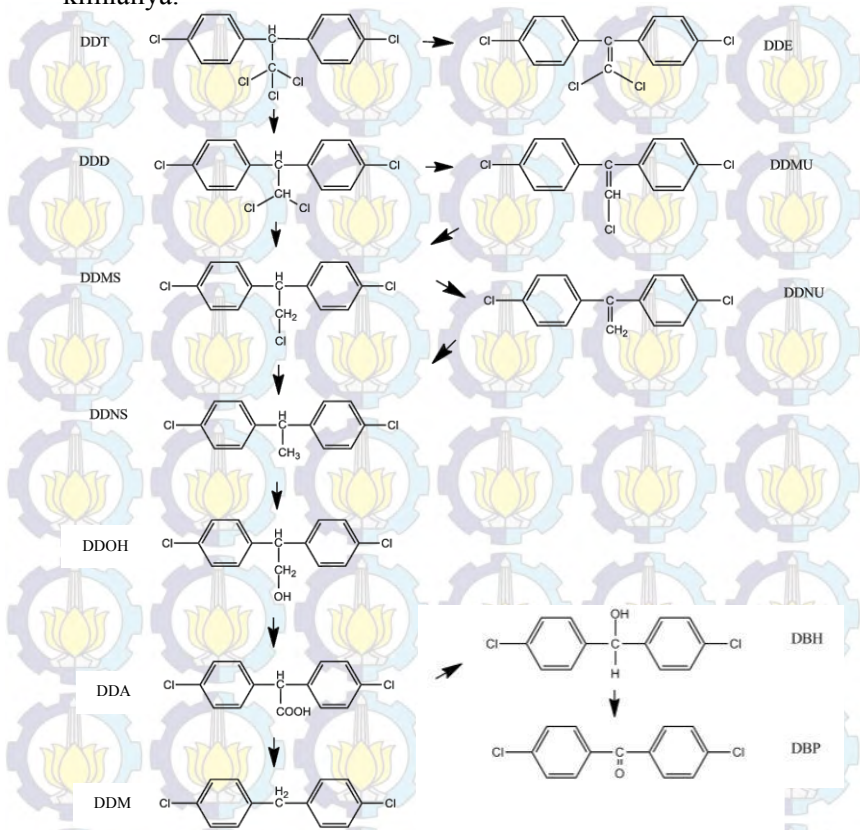
Komisi Pestisida RI juga sudah tidak memberi perijinan bagi penggunaan pestisida golongan organoklorin, termasuk DDT. (Tarumingkeng, 2007).

Senyawa yang terdiri atas bentuk-bentuk isomer dari *1,1,1-trichloro-2,2-bis-(p-chlorophenyl) ethane* yang secara awam disebut juga *Dichloro Diphenyl Trichloroethane* (DDT) diproduksi dengan menyampurkan *chloralhydrate* (CCl_3CHO) dengan *chlorobenzene* ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Cl}$), yang dikatalisasi oleh asam belerang (Tarumingkeng, 2007) (WHO, 1979). Nama dagang DDT yang pernah ada di pasaran antara lain Anofex, Cezarex, Klorofenoten, Klofenoten, Dikofan, Dinosisid, Gesarol, Guesapon, Guesarol, Giron, Ixodex, Neosisid, Neosisidol, dan Zerdan (WHO, 1979).

DDT terdiri atas campuran tiga bentuk isomer DDT (65-80% p,p'-DDT, 15-21% o,p'- DDT, dan 0-4% o,o'-DDT), dan dalam jumlah yang kecil sebagai kontaminan juga terkandung DDE [*1,1-dichloro-2,2- bis(pchlorophenyl) ethylene*] dan DDD [*1,1- dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl) ethane*] sebagai metabolit produk. DDT memiliki sifat fisik berupa tepung kristal putih, tak berasa dan tak berbau. Daya larutnya sangat tinggi dalam lemak dan sebagian besar pelarut organik, tak larut dalam air, tahan terhadap asam keras dan tahan oksidasi terhadap asam permanganat, mempunyai susunan kimia yang stabil dengan daya residu yang lama (3-6 bulan), daya bunuhnya besar, tidak terlalu toksik untuk mamalia dan bersifat serba guna (*all purpose insecticide*).

Biodegradasi DDT menghasilkan beberapa metabolit produk seperti DDD, DDE, DDMU dan sebagainya. Wedemeyer dan Alexander memberikan jalur biodegradasi DDT pada beberapa bakteri, seperti pada Gambar 2.2. DDT secara umum diubah menjadi DDE, tetapi dengan munculnya bakteri mengawali reduksi deklorinasi kelompok triklorometil untuk membentuk DDD, yang dengan reaksi deklorinasi, oksidasi, dekarboksilasi, membentuk DDM, di mana DDM dapat berubah menjadi DBH atau DBP. Berikut adalah jalur biodegradasi utama

untuk metabolisme DDT pada mikroorganisme beserta struktur kimianya.



Gambar 2.2 Struktur Kimia Metabolit Produk yang Terbentuk dari Jalur Biodegradasi Utama pada Mikroorganisme

(Bumpus dkk., 1987)

Dua sifat buruk yang menyebabkan DDT sangat berbahaya terhadap lingkungan hidup adalah sebagai berikut (Tarumingkeng, 2007) :

1. Sifat nonpolar DDT menyebabkan DDT tak larut dalam air, tetapi sangat larut dalam lemak. Makin larut suatu insektisida dalam lemak (semakin lipofilik) semakin tinggi sifat nonpolarinya. Hal ini merupakan salah satu faktor penyebab DDT sangat mudah menembus kulit
2. Sifat DDT yang sangat stabil dan persisten, menyebabkan DDT sukar terurai sehingga cenderung bertahan dalam lingkungan hidup, masuk rantai makanan (*foodchain*) melalui bahan lemak jaringan makhluk hidup. Itu sebabnya DDT bersifat bioakumulatif dan biomagnifikatif. Karena sifatnya yang stabil dan persisten, DDT bertahan sangat lama di dalam tanah, bahkan DDT dapat terikat dengan bahan organik dalam partikel tanah

Terdapat beberapa teori yang menerangkan daya racun DDT, yaitu :

1. Teori Overton – Meyer
DDT dianggap mempunyai daya bius karena adanya koefisien pemisahan minyak-air. Dengan demikian menyebabkan kejenuhan lemak pada dinding sel sehingga terjadi pembiusan indifferen
2. Teori Martin
DDT beracun sebab dapat menghasilkan HCl pada tempat-tempat bekerjanya molekul lipoprotein
3. Teori Pori Membran oleh Mullin
Teori ini menerangkan bahwa DDT dapat tepat memasuki ruang diantara jajaran lipoprotein dalam membrane sel (Sastrodihardjo, 1979).

2.3 Bioremediasi

Bioremediasi merupakan teknik penanganan limbah atau pemulihan lingkungan. Bioremediasi bertujuan untuk memecah atau mendegradasi zat pencemar menjadi bahan yang kurang beracun atau tidak beracun (karbon dioksida dan air). Pada proses bioremediasi, penggunaan mikroorganisme yang telah dipilih akan ditumbuhkan pada polutan tertentu sebagai upaya untuk menurunkan kadar polutan tersebut. Pada saat proses

bioremediasi berlangsung, enzim-enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme memodifikasi struktur polutan beracun menjadi tidak kompleks sehingga menjadi metabolit yang tidak beracun dan berbahaya. Bioremediasi juga dapat diartikan sebagai proses degradasi biologis dari sampah organik pada kondisi terkontrol menjadi suatu bahan yang tidak berbahaya atau konsentrasinya di bawah batas yang ditentukan oleh lembaga berwenang. Sedangkan menurut *United States Environmental Protection Agency* (EPA), bioremediasi adalah suatu proses alami untuk membersihkan bahan-bahan kimia berbahaya. Ketika mikroba mendegradasi bahan berbahaya tersebut, akan dihasilkan air dan gas tidak berbahaya seperti CO₂ (Surtikanti, 2011). Bioremediasi merupakan pengembangan dari bidang bioteknologi lingkungan. Kebanyakan penelitian dalam bidang bioremediasi terfokus pada bakteri, namun teknologi bioremediasi menggunakan jamur cukup menarik perhatian para peneliti belakangan ini.

Sehubungan dengan bioremediasi, Pemerintah Indonesia telah mempunyai hukum yang mengatur standar baku kegiatan bioremediasi dalam mengatasi permasalahan lingkungan akibat kegiatan pertambangan dan perminyakan serta bentuk pencemaran lainnya (logam berat dan pestisida) melalui Kementerian Lingkungan Hidup, Kep Men LH No.128 tahun 2003, tentang tatacara dan persyaratan teknis dan pengelolaan limbah minyak bumi dan tanah terkontaminasi oleh minyak bumi secara biologis (bioremediasi) yang juga mencantumkan bahwa bioremediasi dilakukan dengan menggunakan mikroba lokal. Satu kali siklus bioremediasi yang efektif memerlukan waktu maksimal 8 bulan sebagaimana diatur dalam Keputusan Menteri Lingkungan Hidup No. 128/2003 tersebut. Jenis dan jumlah materi yang akan dibersihkan, konsentrasi paparan rata-rata, kondisi cuaca selama pengolahan dan pilihan tempat pengolahan menentukan waktu dan keberhasilan bioremediasi. Pengelolaan yang efektif dan efisien dalam program bioremediasi dapat mempercepat proses dan menghasilkan tanah yang bersih dan aman dalam siklus 3-4 bulan. Lokasi pengolahan dan

kapasitasnya didesain dan dibangun secara terencana untuk mampu menampung dan mengolah volume tanah yang mungkin terpapar dalam periode mendatang.

Bioremediasi memiliki konsep dasar daur ulang seluruh material organik. Bakteri pengurai spesifik dapat diisolasi dengan menebarkannya pada daerah yang terkontaminasi dan dengan menambahkan nutrisi serta ketersediaan oksigen sehingga mempercepat penurunan polutan. Proses bioremediasi bergantung pada kemampuan mikroorganisme yang digunakan dan sistem yang dioperasikan. Proses bioremediasi akan bekerja maksimal pada pH dan suhu optimum serta tersedianya oksigen yang cukup bagi mikroorganisme (Crawford & Crawford, 1996). Keunggulan teknik bioremediasi yaitu murah, dapat menghilangkan toksisitas dari senyawa pencemar berbahaya, sederhana, dan aman bagi lingkungan karena pada proses remediasinya menggunakan mikroorganisme. Faktor-faktor yang memengaruhi efektivitas proses bioremediasi ialah keadaan lingkungan, fisik, dan kimia. Faktor lingkungan meliputi suhu, pH, ketersediaan oksigen, nutrisi, dan kelembapan. Faktor fisik terdiri atas ketersediaan air, kesesuaian jumlah mikroorganisme dengan senyawa pencemar, dan tersedianya suatu akseptor yang sesuai, misalnya oksigen. Sementara faktor kimia terdiri atas bentuk struktur kimia dari senyawa pencemar yang akan memengaruhi sifat fisik dan kimia pencemar tersebut (Eweis dkk., 1998).

Ada 4 teknik dasar yang biasa digunakan dalam bioremediasi, yaitu:

1. Stimulasi aktivitas mikroorganisme asli (di lokasi tercemar) dengan penambahan nutrien, pengaturan kondisi redoks, optimasi pH, dan sebagainya
2. Inokulasi (penanaman) mikroorganisme di lokasi tercemar menggunakan mikroorganisme yang memiliki kemampuan biotransformasi khusus
3. Penerapan *immobilized enzymes*
4. Penggunaan tanaman (*phytoremediation*) untuk menghilangkan atau mengubah pencemar

Teknologi bioremediasi ada dua jenis, yaitu *ex situ* dan *in situ*. *In situ* (*on site*) adalah perlakuan yang langsung diterapkan pada bahan-bahan kontaminan di lokasi tercemar (Hardiani, 2011). Pembersihan ini lebih murah dan lebih mudah. Bioremediasi *in situ* disebut juga bioremediasi dasar atau *natural attenuation* dimana mikroorganisme melakukan proses remediasi langsung dalam tanah atau air sehingga meminimalisir kerusakan lingkungan. Proses ini berlangsung secara alami dan berjalan sangat lambat. Bioremedasi *in situ* terbagi atas :

- a. *Biostimulasi/Bioventing*: dengan penambahan nutrient (N, P) dan aseptor elektron (O_2) pada lingkungan pertumbuhan mikroorganisme untuk menstimulasi pertumbuhannya.
- b. *Bioaugmentasi*: dengan menambahkan organisme dari luar (*exogenous microorganism*) pada sub permukaan yang dapat mendegradasi kontaminan spesifik.
- c. *Biosparging*: dengan menambahkan injeksi udara di bawah tekanan ke dalam air sehingga dapat meningkatkan konsentrasi oksigen dan kecepatan degradasi.

Sedangkan *ex situ* (*off site*) adalah pengelolaan yang meliputi pemindahan secara fisik bahan-bahan yang terkontaminasi ke suatu lokasi untuk penanganan lebih lanjut (Hardiani, 2011). Pembersihan *off-site* dilakukan dengan cara tanah yang tercemar digali dan dipindahkan ke dalam penampungan yang lebih terkontrol, kemudian diberi perlakuan khusus dengan menggunakan mikroba. Bioremediasi *ex situ* dapat berlangsung lebih cepat, mampu meremediasi jenis kontaminan dan jenis tanah yang lebih beragam, dan lebih mudah dikontrol. Bioremediasi *ex situ* dikenal sebagai metode dimana mikroorganisme diaplikasikan pada tanah atau air terkontaminasi yang telah dipindahkan dari tempat asalnya. Teknik *ex situ* terdiri atas :

- a. *Landfarming*: teknik dimana tanah yang terkontaminasi digali dan dipindahkan pada lahan khusus yang secara periodik diamati sampai polutan terdegradasi

- b. *Composting*: teknik yang melakukan kombinasi antara tanah terkontaminasi dengan tanah yang mengandung pupuk atau senyawa organik yang dapat meningkatkan populasi mikroorganisme
- c. *Biopiles*: merupakan perpaduan antara *landfarming* dan *composting*
- d. *Bioreactor*: dengan menggunakan *aqueous* reaktor pada tanah atau air yang terkontaminasi.

Saat ini, bioremediasi telah berkembang tidak hanya pada pengolahan tanah namun juga pada pengolahan air limbah yang mengandung senyawa-senyawa kimia yang sulit untuk didegradasi dan biasanya dihubungkan dengan kegiatan industri, antara lain logam-logam berat, petroleum hidrokarbon, dan senyawa-senyawa organik terhalogenasi seperti pestisida dan herbisida, maupun nutrisi dalam air seperti nitrogen dan fosfat pada perairan tergenang (Tortora dkk., 2010). Pengembangan IPTEK dalam bioremediasi untuk detoksifikasi atau menurunkan polutan dalam pengendalian pencemaran air telah menjadikan metoda ini menjadi lebih menguntungkan dibandingkan dengan metoda yang menggunakan bahan kimia.

2.4 Biodegradasi

Biodegradasi merupakan salah satu cabang dari bioteknologi lingkungan dimana memanfaatkan aktivitas mikroorganisme dalam menguraikan senyawa-senyawa besar atau kompleks menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana sehingga lebih ramah lingkungan. Mikroorganisme yang digunakan memiliki kemampuan memanfaatkan senyawa organik alami sebagai sumber karbon dan energi (Eris, 2006). Biodegradasi dapat diartikan sebagai proses penguraian oleh aktivitas mikroba (jamur, bakteri, ragi, dan alga) yang mengakibatkan transformasi struktur suatu senyawa, sehingga terjadi perubahan integritas molekular. Biodegradasi dapat berlangsung efektif apabila didukung oleh kondisi lingkungan yang cocok untuk menunjang pertumbuhan dan perkembangan mikroba. Biodegradasi tergantung pada jumlah mikroba atau

enzim yang mampu mengkatalisis reaksi kimia yang akan mengubah polutan (termineralisasi).

Dalam melakukan biodegradasi ada beberapa metode yang dapat dilakukan untuk meningkatkan kecepatan biodegradasi antara lain yaitu dengan penambahan nutrisi untuk menstimulasi mikroorganisme yang biasa disebut metode indigenous (biostimulasi) dan dengan penambahan mikroorganisme yang biasa disebut sebagai metode eksogenous (bioaugmentasi). Pada biostimulasi dapat dilakukan penambahan bahan kimia yang bertindak sebagai akseptor elektron atau tambahan donor elektron (meningkatkan bioavailabilitas). Biostimulasi dapat dihubungkan dengan metode *ex situ* dan *in situ* dimana metode ini dapat mengatasi keterbatasan pasokan akseptor elektron. Sedangkan pada bioaugmentasi penambahan mikroorganisme dilakukan guna mempercepat degradasi. Bioaugmentasi merupakan satu-satunya cara penggunaan genetik untuk mengubah suatu mikroba (Walter, 1997). Faktor-faktor yang mempengaruhi biodegradasi agar dapat berjalan optimal antara lain kadar air, suhu, pH tanah, dan kadar oksigen.

2.5 Jamur Pelapuk Putih

Jamur pelapuk putih termasuk organisme yang dapat mengakumulasi atau memineralisasi dengan baik berbagai macam polutan diantaranya logam berat, insektisida DDT, lindan, *pentachlorophenol* (PCP), *creosote*, *anthracene*, *phenanthrene*, *polychlorinated biphenyls* dan *dioxins*. Kemampuan jamur pelapuk putih dalam mengatasi senyawa xenobiotik berhubungan dengan kemampuannya bekerja secara efisien dan efektif dalam mendegradasi senyawa lignin atau bahan mirip seperti lignin (biodelignifikasi) (Blanchette & Burnes, 1988). Jamur pelapuk putih memiliki kemampuan mendegradasi lignin yang tinggi dengan sedikit mengakibatkan kehilangan selulosa dibandingkan dengan mikroorganisme lain (Sun, 2002). Akan tetapi banyak dari jamur ini selain mendegradasi lignin juga mendegradasi selulosa dan hemiselulosa (Akhtar, 1998). Jamur pelapuk putih yang berpotensi mendegradasi lignin termasuk kelompok mesofil yang

hidup pada suhu antara 5-37°C dengan suhu optimum 25-30°C dan kisaran pH 4-7 (Griffin, 1994). Jamur pelapuk putih tidak dapat memproduksi makanannya sendiri dari substansi yang sederhana seperti karbon dioksida, air, dan mineral. Oleh karena itu, jamur pelapuk putih hidup dari bahan organik yang terdapat pada pohon-pohon tumbang, tanah, sampah (serasah daun) sebagai saprofit ataupun memperoleh makanan dari pohon hidup sebagai parasit (Ruqayyah dkk., 2015).

Jamur pelapuk putih mampu mendegradasi lignin yang merupakan polimer aromatik, sehingga jamur ini dianggap mampu mendegradasi senyawa polutan yang aromatik dengan bantuan enzim-enzim yang dihasilkannya yaitu *lignin peroxidases* (LiPs), *manganese dependent peroxidases* (MnPs) dan enzim *laccase* yang dapat mendetoksifikasi senyawa fenolik. Jamur ini tidak hanya mampu memproduksi enzim pendegradasi lignin, tapi juga mampu berpenetrasi pada substrat untuk menyalurkan enzim ini dalam bahan seperti serpih kayu (Wolfaardt, 2004). Jamur pelapuk putih menguraikan lignin melalui proses oksidasi menggunakan enzim fenol oksidase menjadi senyawa yang lebih sederhana sehingga dapat diserap oleh mikroorganisme (Sanches, 2009). Jamur pelapuk putih menggunakan selulosa sebagai sumber karbon. Jamur mendegradasi lignin secara keseluruhan membentuk karbon dioksida untuk memperoleh molekul selulosa dan masuk ke polisakarida kayu yang dilindungi oleh kompleks lignin-karbohidrat (Wilson, 2002).

Jamur pelapuk putih tergolong jamur yang sangat efisien dalam penggunaan nitrogen. Dalam kondisi sedikit nitrogen, jamur pelapuk putih lebih mengalokasikan nitrogen untuk memproduksi enzim ekstraseluler (enzim yang akan mendegradasi bahan lignoselulosa sebagai sumber nutrisinya) dan komponen esensial sel, serta secara efisien mendaur ulang nitrogen di dalam miseliumnya.

2.6 *Ganoderma lingzhi*

Ganoderma sp. dalam bahasa Jepang dikenal dengan *Reishi*, sedangkan dalam bahasa Cina dikenal dengan “*Ling zhi*”.

Ganoderma sp. disebut juga dengan “*A one Medicine*” karena tidak mengandung efek samping. *Ganoderma sp.* adalah *Basidiomycetes*, yang merupakan famili *polyporaceae*. Asal mulanya, jamur tersebut tumbuh pada kayu atau pokok-pokok yang tebal. *Ganoderma sp.* dapat diperoleh di gunung-gunung yang mempunyai kelembaban yang tinggi. *Ganoderma* ini memiliki bentuk yang mirip dengan bentuk piring. Permukaannya mempunyai warna, dari merah hingga coklat kemerahan seperti pada Gambar 2.3. Pada saat muda, lapisan luar berwarna putih hingga kuning dan batangnya mempunyai warna yang sama. *Ganoderma lingzhi* termasuk kelompok jamur pelapuk putih yang memiliki aktivitas ligninolitik yang tinggi namun hanya menghasilkan enzim lakase peroksidase.



Gambar 2.3 *Ganoderma lingzhi*
(D'souza dkk., 1999)

Berikut adalah taksonomi jamur *Ganoderma lingzhi* :

- Dunia : Fungi
- Divisi : *Basidiomycota*
- Kelas : *Basidiomycetes, Agaricomycetes*
- Bangsa : *Polyporales*
- Suku : *Ganodermataceae*
- Marga : *Ganoderma*
- Jenis : *Ganoderma lingzhi*

Kandungan senyawa aktif dalam *Ganoderma sp.* yaitu polisakarida, ergosterol, kumarin, lactones, alkaloid, asam ganoderik, germanium, vitamin, protein, antikarsinogen, antikanker atau antitumor, dan Adenosin (Suriawiria, 2001).

Tubuh *G. lingzhi* mengandung lebih dari 200 senyawa aktif yang dapat dibagi menjadi tiga kelompok utama, yakni 30% senyawa larut dalam air, 65% senyawa larut dalam pelarut organik, dan 5% senyawa volatil. Polisakarida dan germanium organik merupakan senyawa larut dalam air. Adenosin dan terpenoid adalah senyawa yang larut dalam pelarut organik, sedangkan asam ganoderat termasuk senyawa volatil. Kandungan nutrisi *G. lingzhi* dapat dilihat pada Tabel 2.1.

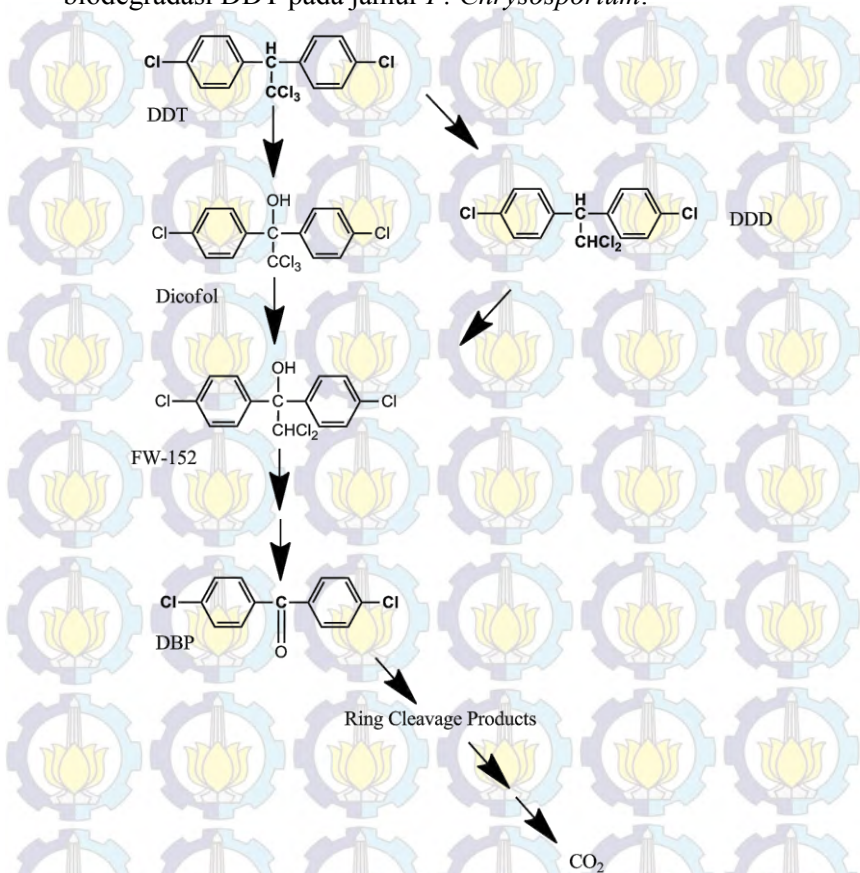
Tabel 2.1 Kandungan Nutrisi *G. lingzhi*

Nutrisi	Jumlah (%)
Karbohidrat	43 %
Protein	26,4%
Lemak	4,5 %
Abu	19,0 %
Air	6,9 %

(Suriawiria, 2001)

Salah satu jamur pelapuk putih, *Phanerochaete chrysosporium*, pernah digunakan untuk mendegradasi DDT. Proses degradasi oleh jamur *P. chrysosporium* ini terjadi seperti ditunjukkan dengan hilangnya DDT dari kultur yang diamati, identifikasi metabolit DDT, analisis kesetimbangan massa dan studi mineralisasi (^{14}C) DDT. Metabolit DDT yang diidentifikasi mencakup DDD, FW-152, dan DBP, menunjukkan bahwa jamur ini melakukan degradasi DDT melalui siklus yang ditunjukkan seperti pada Gambar 2.4. Kecuali untuk DDD dan DBP, tidak ada metabolit umum mengandung bakteri utama yang ditemukan dalam ekstrak *P. chrysosporium* yang diinkubasi dengan (^{14}C) DDT. Hal ini menunjukkan bahwa skema umum yang

ditunjukkan pada gambar 2.4 adalah satu-satunya atau jalur utama biodegradasi DDT pada jamur *P. Chrysosporium*.



Gambar 2.4 Jalur Degradasi DDT oleh Jamur *P. chrysosporium* (Bumpus dkk., 1987)

2.7 *Ralstonia pickettii*

Ralstonia pickettii merupakan salah satu jenis dari marga *Ralstonia* yang banyak dijumpai pada lingkungan tandus dan tercemar dengan nutrisi terbatas. *R. picketti* mampu mendegradasi

polutan xenobiotik seperti toluena dan trikloroetilena sebagai limbah industri (Ryan, 2007). *R. pickettii* mampu menghasilkan polihidroksialkanoat yang dapat dimanfaatkan sebagai cadangan energi dalam melakukan fungsi metabolik ketika berada pada kondisi lingkungan dengan nutrisi terbatas. Pendekatan tersebut memberikan argumen yang kuat bahwa kompleksitas enzim pada *R. pickettii* sangat tinggi sehingga mempunyai kemampuan seperti yang disebutkan di atas.

R. pickettii adalah gram negatif berbentuk batang (Gambar 2.5), yang biasa ditemukan di lingkungan lembab seperti tanah, sungai dan danau. *R. pickettii* adalah organisme oligotrofik, sehingga mampu bertahan di daerah dengan konsentrasi nutrisi yang sangat rendah. Beberapa strain telah menunjukkan kemampuan untuk bertahan hidup di lingkungan yang sangat tercemar dengan logam seperti tembaga (Cu), nikel (Ni), besi (Fe) dan seng (Zn). Kemampuan untuk bertahan dalam kondisi yang keras membuat *R. pickettii* dimanfaatkan untuk bioremediasi (Ryan dkk., 2011).

Taksonomi bakteri *Ralstonia pickettii* sebagai berikut :

Dunia	: Bacteria
Divisi	: <i>Proteobacteria</i>
Kelas	: <i>Beta Protobacteria</i>
Bangsa	: <i>Burkholderiales</i>
Suku	: <i>Ralstoniaceae</i>
Marga	: <i>Ralstonia</i>
Jenis	: <i>Ralstonia pickettii</i>
Sinonim	: <i>Burkholderia pickettii</i> , <i>Pseudomonas pickettii</i> (Yabuuchi dkk., 1995)



Gambar 2.5 *Ralstonia pickettii*

(Ryan dkk., 2011)

Bakteri ini dapat tumbuh di laboratorium dengan membentuk koloni berwarna putih dalam keadaan gelap. Hal ini menunjukkan bahwa *R. pickettii* merupakan bakteri aerob dan tidak mampu respirasi secara fermentatif. Sebagai kemoheterotrof, *R. pickettii* sangat tergantung pada sumber karbon dari luar untuk pertumbuhan sel, yang berarti bahwa pada proses remediasi, biostimulasi dapat meningkatkan hasil degradasi polutan. Sebagai siderofor, *R. pickettii* tumbuh subur di lingkungan yang mengandung banyak zat besi, dan mampu melarutkan Fe^{3+} . *R. pickettii* juga dapat memecah beberapa hidrokarbon aromatik atau senyawa organik volatil (VOC) seperti kresol ($\text{C}_7\text{H}_8\text{O}$), fenol ($\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$) dan toluena (C_7H_8). Senyawa kimia ini biasanya ditemukan dalam produk rumah tangga seperti antiseptik, germisida dan pembersih. Bahan-bahan tersebut berbahaya bagi lingkungan dan sering tertimbun dalam tanah dan air tanah. *R. pickettii* mampu mengeksploitasi sumber daya ini dengan menggunakan hidrokarbon baik sebagai sumber karbon dan energi dengan mengubah hidrokarbon aromatik menjadi katekol. Hal yang membedakan bakteri *R. pickettii* dengan bakteri lain yaitu dapat memetabolisme hidrokarbon aromatik dalam lingkungan hipoksia (kekurangan oksigen).

Kemampuan *R. pickettii* untuk bertahan pada lingkungan dengan konsentrasi logam yang tinggi menyebabkan munculnya beberapa penelitian untuk menentukan apakah bakteri tersebut dapat digunakan untuk bioremediasi. Fakta bahwa *R. pickettii* tumbuh dengan mudah dalam berbagai lingkungan dan tidak bertindak sebagai patogen membuatnya menjadi pilihan yang baik. Uji *in vitro* menunjukkan bahwa melalui biostimulasi, *R. pickettii* mampu menurunkan polutan seperti TCE (*trichloroethane*) dan hidrokarbon aromatik.

2.8 Metode Analisis

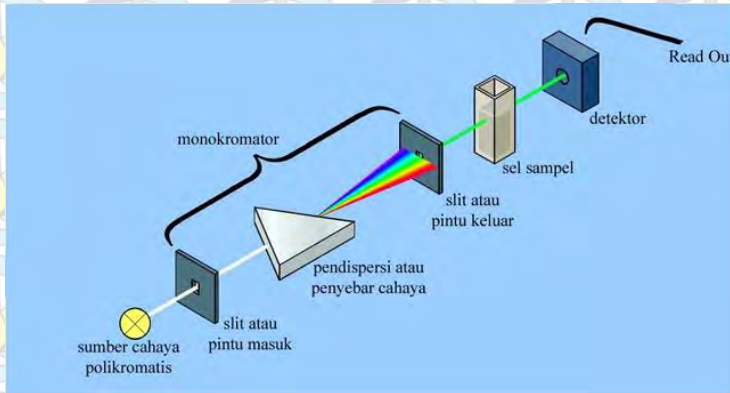
2.8.1 Spektrofotometri UV-Vis

Instrumen yang menggunakan monokromator untuk menyeleksi panjang gelombang dan digunakan untuk menentukan absorbansi disebut spektrofotometer. Sedangkan spektroskopi absorbansi yang menyerap sinar UV-Vis sebagai sumbernya ketika transmitan merupakan rasio dari dua kekuatan radian disebut spektrofotometer UV-Vis.

Spektrofotometer sesuai dengan namanya adalah alat yang terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi. Spektrofotometer digunakan untuk mengukur energi secara relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang (Khopkar, 1998).

Spektrofotometri UV-Vis digunakan untuk menganalisis cairan berwarna, sehingga sampel yang akan diidentifikasi harus diubah dalam bentuk senyawa kompleks. Prinsip alat ini ialah menggunakan radiasi sinar UV-Vis sebagai tenaga yang mempengaruhi substansi senyawa kimia. Molekul dalam senyawa kimia akan menyerap sinar tampak atau ultraviolet pada panjang gelombang (λ) tertentu yang dapat menyebabkan eksitasi elektron dalam orbital molekul tersebut dari tingkat energi dasar ke tingkat

energi yang lebih tinggi. Prinsip kerja spektrofotometri UV-Vis dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Prinsip Kerja Spektrofotometri UV-Vis
(Khopkar, 1998)

Spektrofotometri UV-Vis merupakan gabungan antara spektrofotometri UV dan Visible. Sumber cahaya UV dan Visible menggunakan dua buah sumber cahaya yang berbeda. Spektrofotometri UV-Vis tersusun dari sumber spektrum tampak yang kontinyu, monokromator, sel pengabsorpsi untuk larutan sampel atau blanko, detektor, dan suatu alat untuk mengukur perbedaan absorpsi antara sampel dan blanko ataupun pembandingan (Khopkar, 1998).

2.8.2 Ekstraksi Cair-Cair

Ekstraksi adalah pemisahan satu atau beberapa bahan dari suatu padatan atau cairan dengan bantuan pelarut. Ekstraksi juga merupakan proses pemisahan satu atau lebih komponen dari suatu campuran homogen menggunakan pelarut cair (solven) sebagai separating agen. Pemisahan terjadi atas dasar kemampuan larut yang berbeda dari komponen-komponen dalam campuran. Adapun tujuan dari ekstraksi yaitu untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam suatu sampel. Ekstraksi ini didasarkan pada perpindahan massa komponen zat padat ke dalam pelarut

dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka, kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut. Pada ekstraksi tidak terjadi pemisahan segera dari bahan-bahan yang akan diperoleh (ekstrak), melainkan mula-mula hanya terjadi pengumpulan ekstrak dalam pelarut. Ekstraksi akan lebih menguntungkan jika dilaksanakan dalam jumlah tahap yang banyak. Setiap tahap menggunakan pelarut yang sedikit. Kerugiannya adalah konsentrasi larutan ekstrak makin lama makin rendah, dan jumlah total pelarut yang dibutuhkan menjadi besar, sehingga untuk mendapatkan pelarut kembali biayanya menjadi mahal. Semakin kecil partikel dari bahan ekstraksi, semakin pendek jalan yang harus ditempuh pada perpindahan massa dengan cara difusi, sehingga semakin rendah tahanannya.

Untuk ekstraksi yang baik, pelarut yang digunakan harus memenuhi kriteria sebagai berikut :

1. Kemampuan tinggi untuk melarutkan komponen di dalam campuran
2. Kemampuan tinggi untuk dapat diambil kembali
3. Perbedaan berat jenis antara ekstrak dan rafinat lebih besar
4. Pelarut dan larutan yang akan diekstraksi harus tidak mudah bercampur
5. Harus tidak mudah bereaksi dengan zat yang akan diekstraksi
6. Harus tidak merusak alat secara korosi
7. Tidak mudah terbakar, tidak beracun, dan harga relatif murah

Selain itu, untuk pertimbangan-pertimbangan lain dalam pemilihan pelarut yang digunakan yaitu selektifitas (faktor pemisahan = β), koefisien distribusi, *recoverability* (kemampuan untuk dimurnikan), densitas, tegangan antar muka (*interfasia tension*), *chemical reactivity*, dan viskositas.

Kriteria yang paling menentukan dalam pemilihan pelarut di samping kriteria di atas yaitu tingkat kepolaran suatu unsur ataupun senyawa. Suatu senyawa polar akan lebih mudah larut dalam pelarut polar. Demikian sebaliknya, senyawa non polar juga akan lebih larut dalam pelarut yang non polar pula. Ada tiga

faktor penting yang berpengaruh dalam peningkatan karakteristik hasil dalam ekstraksi cair-cair yaitu :

1. Perbandingan pelarut-umpan (S/F)
Kenaikan jumlah pelarut (S/F) yang digunakan akan meningkatkan hasil ekstraksi tetapi harus ditentuka titik (S/F) yang minimum agar proses ekstraksi menjadi lebih ekonomis
2. Waktu ekstraksi
Ekstraksi yang efisien adalah maksimumnya pengambilan solute dengan waktu ekstraksi yang lebih cepat
3. Kecepatan pengadukan
Untuk mencapai ekstraksi yang efisien, maka pengadukan yang baik adalah pengadukan yang memberikan hasil ekstraksi maksimum dengan kecepatan yang minimum, sehingga konsumsi energi menjadi minimum

(Martunus dkk, 2006)

Berdasarkan sifat diluen dan solven, sistem ekstraksi dibagi menjadi 2 sistem :

- a. *Immiscible extraction*, solven (S) dan diluen (D) tidak saling larut
- b. *Partially miscible*, solven (S) sedikit larut dalam diluen (D) dan sebaliknya, meskipun demikian, campuran ini heterogen, jika dipisahkan akan terdapat fase diluen dan fase solven.

Ekstraksi dibagi menjadi dua, yaitu ekstraksi padat-cair dan ekstraksi cair-cair. Pada ekstraksi cair-cair, satu komponen bahan atau lebih dari suatu campuran dipisahkan dengan bantuan pelarut. Ekstraksi cair-cair terutama digunakan, bila pemisahan campuran dengan cara destilasi tidak mungkin dilakukan (misalnya karena pembentukan azeotrop atau karena kepekaannya terhadap panas) atau tidak ekonomis. Seperti ekstraksi padat-cair, ekstraksi cair-cair selalu terdiri dari sedikitnya dua tahap, yaitu pencampuran secara intensif bahan ekstraksi dengan pelarut dan pemisahan kedua fase cair itu sesempurna mungkin. Pada saat pencampuran terjadi perpindahan massa, yaitu ekstrak meninggalkan pelarut yang pertarna (media pembawa) dan masuk

ke dalam pelarut kedua (media ekstraksi). Sebagai syarat ekstraksi ini, bahan ekstraksi dan pelarut tidak saling melarut.

Menurut Laddha & Degaleesan (1976), ekstraksi cair-cair adalah proses pemisahan suatu komponen dari fasa cair satu ke fasa cair lainnya. Operasi ekstraksi cair-cair terdiri dari beberapa tahap, yaitu :

1. Kontak antara pelarut (solvent) dengan fasa cair yang mengandung komponen yang akan diambil (solut), kemudian solut akan berpindah dari fasa umpan (diluent) ke fasa pelarut (solvent).
2. Pemisahan dua fasa yang tidak saling melarutkan yaitu fasa yang banyak mengandung pelarut disebut fasa ekstrak dan fasa yang banyak mengandung umpan disebut fasa rafinat.

Aplikasi ekstraksi cair-cair telah digunakan secara luas dalam industri kimia, yaitu industri kimia organik dan kimia anorganik (Laddha & Degaleesan, 1976). Pada saat ini penelitian-penelitian menggunakan proses ekstraksi cair-cair ditujukan untuk mengambil senyawa (zat-zat) kimia baru atau menemukan pelarut-pelarut yang dapat memberikan hasil ekstraksi yang lebih baik (Martunus & Helwani, 2005).

Prinsip dari ekstraksi cair-cair (corong pisah) merupakan pemisahan komponen kimia di antara 2 fase pelarut yang tidak saling bercampur di mana sebagian komponen larut pada fase pertama dan sebagian larut pada fase kedua, lalu kedua fase yang mengandung zat terdispersi dikocok, lalu didiamkan sampai terjadi pemisahan sempurna dan terbentuk dua lapisan fase cair, dan komponen kimia akan terpisah ke dalam kedua fase tersebut sesuai dengan tingkat kepolarannya dengan perbandingan konsentrasi yang tetap. Pemisahan zat-zat terlarut antara dua cairan yang tidak saling mencampur antara lain menggunakan alat corong pisah.

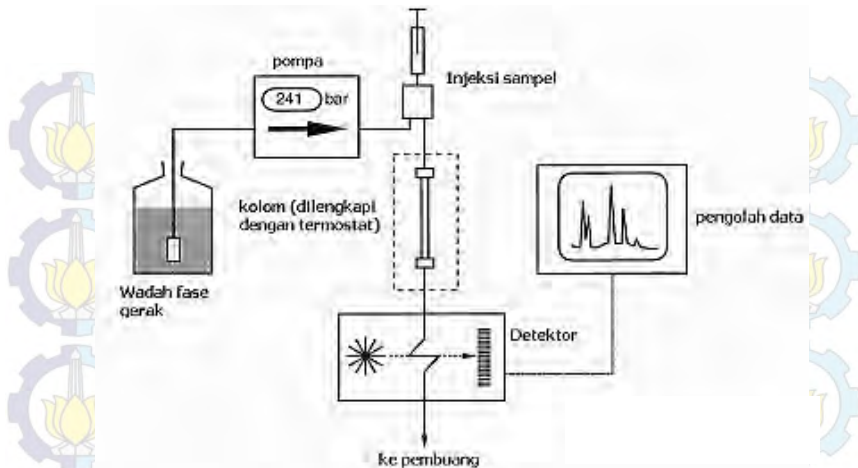
Cara kerja ekstraksi cair-cair (*liquid extraction, solvent extraction*) yaitu solut dipisahkan dari cairan pembawa (diluen) menggunakan solven cair. Campuran diluen dan solven ini adalah heterogen (*immiscible*, tidak saling campur), jika dipisahkan

terdapat 2 fase, yaitu fase diluen (rafinat) dan fase solven (ekstrak). Perbedaan konsentrasi solut di dalam suatu fasa dengan konsentrasi pada keadaan setimbang merupakan pendorong terjadinya pelarutan (pelepasan) solut dari larutan yang ada. Gaya dorong (*driving force*) yang menyebabkan terjadinya proses ekstraksi dapat ditentukan dengan mengukur jarak sistem dari kondisi setimbang. Fase rafinat adalah fase residu, berisi diluen dan sisa solut. Sedangkan fase ekstrak adalah fase yang berisi solut dan solven.

2.8.3 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Komatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) atau *High Performances Liquid Chromatography* (HPLC) merupakan salah satu jenis kromatografi cair modern yang efisiennya sama dengan kromatografi cair-gas. HPLC mirip dengan kromatografi kolom konvensional. Perbedaannya, HPLC menggunakan kolom yang umunya mempunyai diameter kecil (2-8 mm) dengan ukuran partikel penunjang 50 μm disertai laju aliran diperbesar dengan tekanan yang tinggi sehingga waktu retensinya singkat dan analisis berlangsung cepat. HPLC mempunyai ketetapan dan ketelitian tinggi, pelarut dan kolom dapat dipakai berulang (Khopkar, 1998).

Prinsip dasar pemisahan instrumen ini adalah perbedaan kecepatan migrasi dari komponen-komponen dalam sampel yang terjadi karena adanya perbedaan keseimbangan distribusi dalam fasa diam dan fasa gerak. Dalam HPLC, fasa diam dan fasa gerak dapat berinteraksi secara selektif dengan sampel. Interaksi seperti pembentukan kompleks atau ikatan hidrogen dapat terjadi dalam fasa gerak HPLC. Beberapa syarat dari fasa gerak HPLC yaitu harus bertindak sebagai pelarut yang baik untuk sampel yang akan dianalisis, zat cair harus murni dan jernih untuk menghindari kotoran yang dapat mengganggu interpretasi kromatogram dan menghindarkan penyumbatan kolom, mudah diperoleh, murah, tidak mudah terbakar dan tidak beracun, memiliki viskositas rendah sesuai dengan detektor yang digunakan. Prinsip kerja HPLC dapat dilihat pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7 Prinsip Kerja HPLC

(Khopkar, 1998)

2.8.4 Kromatografi Gas – Spektroskopi Massa (GC-MS)

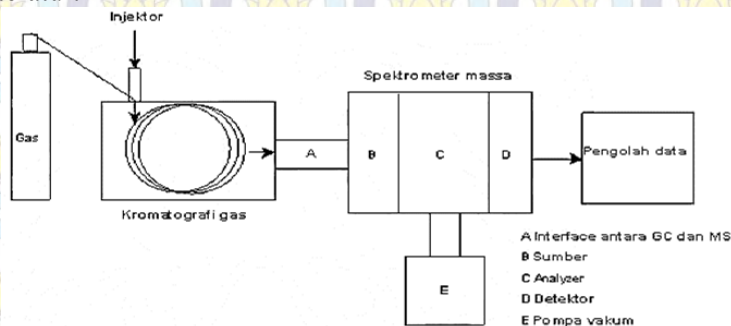
Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa merupakan metode yang menggabungkan kromatografi gas dan spektroskopi massa untuk mengidentifikasi zat dalam sampel. Kromatografi gas (GC) untuk menganalisis jumlah senyawa secara kuantitatif dan spektroskopi massa (MS) untuk menganalisis struktur molekul senyawa analit. Metode analisis dilakukan dengan membandingkan konsentrasi massa atom dari spektrum yang dihasilkan. Penggunaan kromatografi gas dapat dipadukan dengan spektroskopi massa yang menghasilkan data lebih akurat dalam pengidentifikasian senyawa yang dilengkapi dengan struktur molekulnya.

Kromatografi gas merupakan salah satu teknik spektroskopi yang menggunakan prinsip pemisahan campuran berdasarkan perbedaan kecepatan migrasi komponen-komponen penyusunnya. Proses pemisahan dilakukan tanpa melalui proses dekomposisi. Kromatografi gas biasa digunakan untuk mengidentifikasi suatu senyawa yang terdapat pada campuran gas

dan juga untuk menentukan konsentrasi suatu senyawa dalam fase gerak. Selain itu, kromatografi gas juga digunakan untuk menguji kemurnian senyawa dan memisahkan komponen dalam campuran menjadi bentuk molekul-molekul yang lebih kecil.

Spektroskopi massa adalah suatu metode untuk mendapatkan berat molekul dengan cara mencari perbandingan massa terhadap muatan dari ion yang muatannya diketahui. Sampel yang dianalisis akan diubah menjadi ion-ion gasnya dan massa dari ion-ion tersebut dapat diukur berdasarkan hasil deteksi berupa spektrum massa.

Prinsip kerja GC-MS (lihat Gambar 2.8) yaitu, senyawa sampel ditembak oleh arus elektron sehingga menyebabkan senyawa terpisah menjadi fragmen yang merupakan muatan ion dengan massa tertentu. Massa fragmen jika dibagi muatan disebut perbandingan massa per satuan (m/z), yang mewakili berat molekul fragmen. Fragmen tertentu difokuskan melewati celah menuju detektor oleh empat elektromagnet (*quadropole*) yang diprogram oleh komputer. Siklus *quadropole* disebut scan, yang berlangsung berkali-kali per detik. Komputer merekam grafik pada setiap scan, dan grafik ini disebut spektrum massa. Komputer GC-MS memiliki literatur spektrum untuk mengidentifikasi senyawa kimia yang tidak diketahui dengan membandingkan spektrum massa dari komponen sampel dengan literatur.



Gambar 2.8 Prinsip Kerja GC-MS

(Sunardi, 2006)

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Peralatan dan instrumentasi yang digunakan dalam penelitian ini antara lain erlenmeyer berpenutup, gelas beker, neraca digital, labu bundar, corong buchner, corong pisah, corong kaca, jarum ose, cawan steril, mikro pipet, pompa vakum, *ultrasonic cleaner*, evaporator, *autoclave*, *autoshaker*, filter Whatman diameter 90 mm, tabung gas oksigen, tabung falcon, *homogenizer*, inkubator, *centrifuge*, HPLC (Jasco, Japan) dengan *intelligent pump* PU-1580 (Jasco, Japan), *multiwavelength detector* LG 1580-02 (Jasco, Japan), dan *autosampler* AS-950 (Jasco, Japan) serta menggunakan kolom inertsil ODS-3 (150 mm) dengan diameter dalam 4,6 mm (GL Sciences, Japan) serta detektor UV-Vis, dan GC-MS merk Agilent Technologies 5975C inert XL MSD.

3.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain bakteri *Ralstonia pickettii* diambil dari koleksi laboratorium mikroorganisme Kimia FMIPA ITS, jamur *Ganoderma lingzhi* diambil dari koleksi laboratorium mikroorganisme Kimia FMIPA ITS, *Dichloro Diphenyl Trichloroethane* (DDT), *potato dextrose agar* (PDA) (Merck), *potato dextrose broth* (PDB) (Becton Dickinson), *nutrient borth* (NB) (Merck), *nutrient agar* (NA) (Merck), aseton (PT. Smart Lab Indonesia), aqua DM, piren, metanol (Merck), n-heksana (Fulltime), dan Na₂SO₄ anhidrat (Merck).

3.2 Prosedur Penelitian

3.2.1 Regenerasi Jamur *Ganoderma lingzhi*

Jamur pelapuk putih, *Ganoderma lingzhi*, sebanyak 4 ose diinokulasikan ke dalam cawan petri yang berisi media *potato dextrose agar* (PDA) dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 7 hari.

3.2.2 Persiapan Kultur Cair Jamur *G. lingzhi*

Jamur hasil regenerasi dengan diameter 1 cm diinokulasikan ke dalam erlenmeyer yang berisi 10 ml *potato dextrose broth* (PDB). Selanjutnya, dipre-inkubasi pada suhu 30°C selama 7 hari.

3.2.3 Regenerasi Bakteri *Ralstonia pickettii*

Bakteri *Ralstonia picketti* sebanyak 1 ose diinokulasikan ke dalam cawan petri yang berisi media *nutrient agar* (NA) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

3.2.4 Pembuatan Kurva Pertumbuhan *R. pickettii*

Sebanyak satu koloni (1 mL) bakteri hasil regenerasi diinokulasikan ke dalam erlenmeyer yang berisi media *nutrient broth* (NB). Kemudian, kultur diinkubasi pada suhu 37°C dan digoyang di dalam *shaker incubator* dengan kecepatan 180 rpm. Selanjutnya, kultur diambil dengan mikropipet, dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur *optical density* pada panjang gelombang 600 nm (OD₆₀₀) dengan spektrofotometri UV-Vis tiap 1 jam sekali. Data absorbansi yang diperoleh digunakan untuk membuat kurva pertumbuhan dengan absorbansi sebagai fungsi waktu.

3.2.5 Persiapan Kultur Cair Bakteri *R. pickettii*

Sebanyak satu koloni bakteri yang terbentuk dari hasil regenerasi diinokulasi ke dalam erlenmeyer yang berisi media *nutrient broth* (NB) dan dipre-inkubasi pada suhu 37°C selama 30 jam dan digoyang di dalam *shaker incubator* dengan kecepatan 180 rpm.

3.2.6 Pembuatan Kurva Standar DDT

Labutan DDT disiapkan dengan konsentrasi 25, 50, 75, 100% (100% = 0,25 μmol DDT yang berasal dari 50 μL DDT 5 mM). Masing-masing konsentrasi DDT ditambah dengan 50 μL piren 5 mM sebagai internal standar. Sampel dianalisis menggunakan HPLC dengan fasa gerak metanol 82% dan air 18%. Kurva dibuat dengan nilai perbandingan luas area puncak DDT/piren sebagai fungsi konsentrasi DDT.

3.2.7 Biodegradasi DDT oleh Jamur *G. lingzhi*

Sebanyak 10 mL kultur *G. lingzhi* hasil pre-inkubasi selama 7 hari, masing-masing ditambah dengan 50 μL DDT 5 mM dalam DMSO (konsentrasi akhir: 0,25 mmol DDT/erlenmeyer). Kemudian, kultur ditambahkan 10 mL *potato dextrose broth* (PDB) hingga volume total 20 mL. Tiap erlenmeyer yang berisi campuran kultur tersebut diberi oksigen selama 1 menit dan ditutup dengan sumbat kaca serta diselotip menggunakan parafilm. Campuran kultur diinkubasi secara statis selama 7 hari pada suhu 25°C. Selanjutnya, DDT dalam campuran kultur dianalisis dengan prosedur penelitian 3.2.10.

3.2.8 Biodegradasi DDT oleh Bakteri *R. pickettii*

Erlenmeyer yang telah berisi 10 mL *potato dextrose broth* (PDB) ditambahkan bakteri hasil pre-inkubasi selama 30 jam dengan variasi penambahan sebanyak 1, 3, 5, 7 dan 10 mL (1 mL $\approx 1,337 \times 10^9$ sel bakteri *R. pickettii*/mL kultur). Tiap erlenmeyer yang berisi campuran kultur ditambah 50 μL DDT 5 mM dalam DMSO (konsentrasi akhir: 0,25 mmol DDT/erlenmeyer). Kemudian, campuran kultur ditambahkan dengan PDB masing-masing 9, 7, 5, 3, dan 0 mL hingga volume total 20 mL. Tiap erlenmeyer yang berisi campuran kultur diberi oksigen dan ditutup sumbat kaca serta diselotip. Campuran kultur diinkubasi secara statis selama 7 hari pada suhu 25°C. Selanjutnya, DDT dalam campuran kultur dianalisis dengan prosedur penelitian 3.2.10.

3.2.9 Pengaruh Penambahan *R. pickettii* terhadap Biodegradasi DDT oleh *G. lingzhi*

Sebanyak 10 mL Kultur jamur hasil pre-inkubasi, ditambah dengan kultur *R. pickettii* dengan variasi penambahan sebanyak 1, 3, 5, 7, dan 10 mL ($1 \text{ mL} \approx 1,337 \times 10^9$ sel bakteri *R. pickettii*/mL kultur). Masing-masing kultur ditambah 50 μL DDT 5 mM dalam DMSO (konsentrasi akhir: 0,25 mmol DDT/erlenmeyer). Kemudian, campuran kultur ditambahkan dengan PDB masing-masing 9, 7, 5, 3, dan 0 mL hingga volume total 20 mL. Tiap erlenmeyer yang berisi campuran kultur diberi oksigen dan ditutup sumbat kaca serta diselotip. Campuran kultur diinkubasi secara statis selama 7 hari pada suhu 25°C. Selanjutnya, DDT dalam campuran kultur dianalisis dengan prosedur penelitian 3.2.10.

3.2.10 Perolehan Kembali (*Recovery*) DDT

Campuran kultur hasil inkubasi selama 7 hari ditambahkan dengan 50 μL piren dan 20 mL metanol. Selanjutnya, campuran kultur tersebut dipindah ke tabung falcon dan tempat awal campuran dicuci dengan 5 mL aseton. Hasil pencucian dimasukkan juga ke dalam tabung falcon. Kemudian, campuran kultur hasil inkubasi yang berada dalam tabung falcon dihomogenkan menggunakan *homoginezer*. Campuran kultur yang telah dihomogenkan, disaring menggunakan kertas saring Whatman 41 diameter 90 mm. Setelah miselium tersaring, supernatan ditampung kembali dan dimasukkan ke dalam labu bundar, sedangkan residu (miselium) yang terdapat pada kertas saring dikeringkan dan ditimbang untuk mengetahui berat biomassa.

Supernatan yang ditampung di dalam labu bundar dievaporasi pada suhu 64°C hingga volume mencapai 15 mL. Setelah dievaporasi, supernatan dituang ke dalam corong pisah. Sedangkan labu bundar tempat supernatan dicuci dengan 50 mL air dan 50 mL n-heksana sebanyak 2 kali. Hasil pencucian dimasukkan ke dalam corong pisah. Kemudian, larutan dalam corong pisah digoyang dengan *shaker* selama 15 menit. Fase

aquos dan organik yang terbentuk dari proses ekstraksi tersebut dikeluarkan dan ditampung di tempat yang berbeda.

Fase aquos dari ekstraksi pertama dimasukkan kembali ke dalam corong pisah. Selanjutnya, labu bundar dicuci dengan 20 mL air dan 50 mL n-heksana sebanyak 2 kali. Hasil pencucian dimasukkan ke dalam corong pisah kembali. Kemudian larutan dalam corong pisah digoyang dengan *shaker* selama 15 menit. Fase organik yang terbentuk pada ekstraksi kedua ditampung bersamaan dengan hasil fase organik yang terbentuk pada ekstraksi pertama. Untuk fase aquos sudah tidak diperlukan lagi.

Fase organik hasil dua kali ekstraksi disaring menggunakan kapas dan Na_2SO_4 anhidrat. Setelah disaring, filtrat dievaporasi kembali pada suhu 67°C hingga volume mencapai 5 mL. Selanjutnya filtrat diambil 2 mL dan dimasukkan ke dalam vial. Filtrat dalam vial pertama ini dianalisis menggunakan GC-MS. Kemudian, filtrat yang tersisa dalam labu bundar dievaporasi kembali sampai kering dan ditambahkan 2 mL metanol. Selanjutnya, filtrat disonik sampai larut dan dimasukkan ke dalam vial. Filtrat dalam vial kedua ini dianalisis menggunakan HPLC.

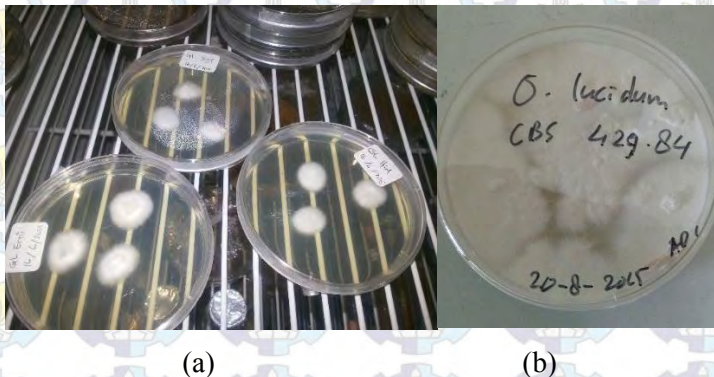
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Kultur Jamur *Ganoderma lingzhi*

4.1.1 Regenerasi Jamur *G. lingzhi*

Jamur yang digunakan pada penelitian ini adalah jamur pelapuk putih (*white rot fungus*), *Ganoderma lingzhi*. Mula-mula, jamur *G. lingzhi* diregenerasi terlebih dahulu untuk mencegah kematian karena berkurangnya nutrisi pada media yang lama. Cara meregenerasi *G. lingzhi* yaitu diinokulasikan *G. lingzhi* ke dalam cawan petri yang berisi media *potato dextrose agar* (PDA) dengan menggunakan jarum ose. Pemilihan media PDA sebagai media inokulasi dikarenakan PDA mengandung nutrisi lengkap dengan komposisi agar (15 g), glukosa (10 g) dan ekstrak kentang (40 g) yang sesuai dengan kebutuhan jamur selama masa pertumbuhan. Dalam 100 gram kentang mengandung protein (2 g), lemak (0,1 g), karbohidrat (19,1 g), kalsium (11 mg), fosfor (56 mg), serat (0,3 g), zat besi (0,7 mg), vitamin B1 (0,09 mg), vitamin B2 (0,03 mg), vitamin C (16 mg), niasin (1,4 mg) dan energi (83 kal) (Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI, 1996). Protein digunakan sebagai sumber nitrogen yang akan dipecah menjadi asam amino untuk menghasilkan enzim dan protein bagi sel (Volk & Margaret F, 1993). Karbohidrat atau *dextrose* digunakan sebagai sumber karbon untuk menghasilkan energi yang digunakan sel jamur dalam metabolismenya. Unsur mineral seperti unsur makro (K, P, Ca, Mg) dan unsur mikro (Na, Mn, Co, Cu, Al) berfungsi sebagai pengatur tekanan osmose, kadar ion hidrogen dan permeabilitas suatu media dan juga kofaktor bagi enzim (Sumarsih, 2003). Unsur fosfor berperan dalam penyusunan membran plasma dan dibutuhkan sebagai komponen ATP, asam nukleat dan sejumlah koenzim seperti NAD, NADP dan flavin (Bimbi, 2012). Vitamin B kompleks digunakan sebagai koenzim dan katalisator (Ashari, 2014). Unsur kalium berperan dalam aktivitas enzim metabolisme karbohidrat dan keseimbangan ionik (Djarijah & Djarijah, 2001).

Selama proses inokulasi dilakukan di dalam *laminary flow* untuk menghindari terjadinya kontaminasi dengan mikroorganisme lain. Jamur yang telah diinokulasi kemudian diinkubasi pada suhu 30°C dalam inkubator yang gelap. Pemilihan kondisi gelap dikarenakan jamur dapat tumbuh secara optimal dalam keadaan lingkungan yang gelap (Djarijah & Djarijah, 2001). Proses inkubasi ini dilakukan selama 7 hari sampai miselium menutupi seluruh media dan jamur siap digunakan untuk proses selanjutnya. Gambar 4.1 menunjukkan hasil regenerasi jamur *G. lingzhi* pada hari ketiga dan hari ketujuh.



Gambar 4.1 Regenerasi Jamur *G. lingzhi* (a) Setelah 3 Hari Regenerasi; (b) Setelah 7 Hari Regenerasi

4.1.2 Persiapan Kultur Cair Jamur *G. lingzhi*

Jamur *G. lingzhi* hasil regenerasi diinokulasikan ke dalam erlenmeyer yang berisi *potato dextrose broth* (PDB) menggunakan jarum ose dengan diameter 1 cm. Pemilihan PDB sebagai media cair karena media PDB lebih efektif dibandingkan dengan media lainnya (*low nitrogen* dan *high nitrogen medium*) dan mengandung nutrisi yang dibutuhkan oleh jamur dengan komposisi ekstrak kentang (20 g) dan glukosa (6,5 g). Selanjutnya, kultur *G. lingzhi* dipre-inkubasi pada suhu 25°C

selama 7 hari agar kultur dapat beradaptasi dengan media yang digunakan dan miselium jamur dapat tumbuh maksimal sebelum ditambahkan DDT. Setelah masa inkubasi selama 7 hari, didapatkan miselium *G. lingzhi* yang telah siap untuk ditambahkan DDT.

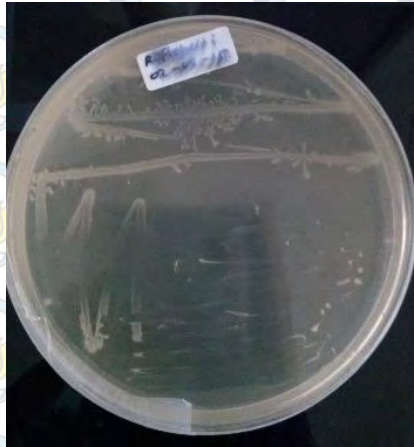
4.2 Kultur Bakteri *Ralstonia pickettii*

4.2.1 Regenerasi Bakteri *R. pickettii*

Bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah *Ralstonia pickettii*. Mula-mula, bakteri *R. pickettii* diregenerasi terlebih dahulu dengan cara diinokulasikan *R. pickettii* ke dalam cawan petri yang berisi media *nutrient agar* (NA) menggunakan jarum ose dengan goresan zigzag. Pemilihan NA sebagai media inokulasi karena NA memiliki kandungan nutrisi lengkap dan sesuai dengan yang dibutuhkan bakteri selama proses pertumbuhan dan perkembangannya. Komposisi NA terdiri atas pepton, ekstrak daging, NaCl, dan agar. Pepton berfungsi sebagai sumber nitrogen dimana kaya akan senyawa nitrogen sederhana bebas. Nitrogen digunakan oleh bakteri untuk mensintesis asam amino, protein, dan enzim serta untuk membentuk sel baru. Ekstrak daging sebagai zat hara untuk menyediakan karbohidrat, protein, vitamin B kompleks dan garam mineral (kalsium, sulfur, fosfat, kalium, dll) (Sigmaaldrich, 2010). Karbohidrat digunakan sebagai sumber karbon yang menjadi sumber energi utama yang diperlukan untuk metabolisme dan pertumbuhan bakteri. Protein digunakan sebagai sumber nitrogen yang akan dipecah menjadi asam amino dan digunakan sebagai energi bagi sel (Volk & Margaret F, 1993). Vitamin B kompleks berperan sebagai katalitik (katalisator) dalam sel dan sebagai komponen koenzim atau grup prostetik enzim (Ashari, 2014). NaCl berfungsi sebagai penyedia elemen mikro berupa natrium, selain itu garam NaCl diperlukan untuk menaikkan tekanan osmosis dan keseimbangan psikokimia sel bakteri. Agar berfungsi sebagai pematat media (Sutarma, 2000)

Dalam proses ini, bakteri yang telah diinokulasi, diinkubasi pada suhu 37°C. Setelah proses inkubasi selama 24

jam, akan diperoleh bakteri hasil regenerasi yang telah membentuk koloni-koloni dan siap digunakan untuk proses selanjutnya. Gambar 4.2 menunjukkan hasil regenerasi bakteri *R. pickettii* setelah 24 jam regenerasi. Koloni yang terbentuk tidak terlalu banyak karena pertumbuhan *R. pickettii* cukup lama.



Gambar 4.2 Regenerasi Bakteri *R. pickettii* Setelah 24 Jam

4.2.2 Kurva Pertumbuhan *R. picketti*

Pertumbuhan didefinisikan sebagai pertambahan jumlah sel dengan bertambahnya RNA, DNA, protein dan air. Pada organisme prokariot seperti bakteri, pertumbuhan didefinisikan sebagai pertambahan volume dan ukuran sel serta sebagai pertambahan jumlah sel (Sumarsih, 2003). Pertumbuhan sel dapat diukur secara langsung dari massa sel dan secara tidak langsung dengan mengukur turbiditas cairan medium tumbuh (Suhenry, 2011). Pada penelitian ini dilakukan pengukuran secara tidak langsung dengan metode turbidimetri pada panjang gelombang 600 nm dan pengukuran dilakukan selama 48 jam dengan selang waktu 1 jam. Prinsip dasar metode turbidimetri adalah apabila cahaya mengenai sel, maka sebagian dari cahaya tersebut akan diserap dan sebagian lagi akan diteruskan. Jumlah cahaya yang

dihamburkan atau diserap (absorbansi) berbanding lurus dengan jumlah sel bakteri. Semakin sedikit cahaya yang teruskan menandakan semakin banyak jumlah sel bakteri yang terdapat pada media sehingga menyebabkan terjadinya peningkatan *optical density* (OD) dalam kultur bakteri (Purwoko, 2007).

Pada pengukuran ini akan diperoleh kurva pertumbuhan dimana kurva pertumbuhan bakteri dapat dipisahkan menjadi empat fase utama yaitu fase lag (fase lambat), fase pertumbuhan eksponensial (fase pertumbuhan cepat), fase stasioner (fase statis) dan fase penurunan populasi (kematian). Fase-fase tersebut mencerminkan keadaan bakteri dalam kultur pada waktu tertentu. Di antara setiap fase terdapat suatu periode peralihan dimana waktu dapat berlalu sebelum semua sel memasuki fase yang baru (Kusnadi dkk, 2012).

Pembuatan kurva pertumbuhan bakteri dilakukan dengan cara menginokulasi 1 koloni (1 mL) bakteri hasil regenerasi ke dalam erlenmeyer yang berisi media *nutrient broth* (NB). Inokulasi bakteri dalam NB bertujuan agar sel bakteri dari media padat dapat beradaptasi pada media cair. Bakteri yang telah diinokulasi, diinkubasi pada suhu 37°C dan digoyang di dalam *shaker incubator* dengan kecepatan 180 rpm. Proses inkubasi dilakukan di dalam *shaker incubator* bertujuan untuk meratakan sebaran bakteri dalam media, sehingga saat diambil untuk digunakan dalam proses selanjutnya, jumlah bakteri relatif sama per satuan volume serta untuk meningkatkan kadar oksigen dalam media.

Selanjutnya, dilakukan pengukuran dengan mengambil kultur menggunakan mikropipet, yang kemudian dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur *optical density* pada panjang gelombang 600 nm (OD_{600}) dengan spektrofotometri UV-Vis tiap 1 jam sekali selama 48 jam. Kemudian, dibuat kurva dengan absorbansi sebagai fungsi waktu. Penggunaan panjang gelombang 600 nm didasarkan pada warna kultur, 420 nm digunakan untuk kultur tak berwarna, 540 nm digunakan untuk kultur berwarna kuning terang, dan 600-625 digunakan untuk kultur berwarna kuning-

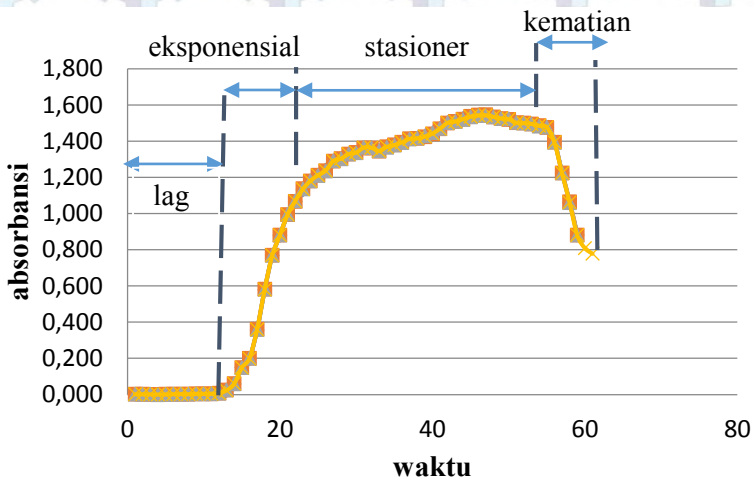
coklat. Penggunaan panjang gelombang 600 nm juga didasarkan pada pembuatan kurva pertumbuhan *Escherichia coli* yang akan digunakan sebagai acuan untuk mengetahui konsentrasi dari *R. pickettii*, dimana

1 absorbansi *E. coli* $\approx 1 \times 10^9$ sel/mL kultur

≈ 1 mg/mL atau 1 g/L berat basah sel

$\approx 0,25$ g/L berat kering sel

Pengukuran turbidimetri dari *R. pickettii* menghasilkan kurva pertumbuhan bakteri seperti pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Kurva Pertumbuhan *R. pickettii*

Kurva pertumbuhan pada Gambar 4.3 menunjukkan bahwa *R. pickettii* mengalami 4 fase yaitu fase lag (adaptasi) pada jam ke 0-12, fase eksponensial pada jam ke 13-29, fase stasioner pada jam ke 30-46 dan fase kematian pada jam ke 47-61. Berdasarkan kurva pertumbuhan tersebut diketahui bahwa biomassa dapat dipanen pada akhir fase eksponensial hingga masuk ke fase stasioner yaitu pada jam ke 30 dengan absorbansi 1,337. Pemilihan waktu panen pada akhir fase eksponensial hingga masuk fase stasioner dikarenakan pada fase tersebut sel bakteri berada pada jumlah yang besar serta metabolit sekunder mulai

diproduksi. Dari hasil absorbansi pada jam ke 30 dapat dihitung berat sel keringnya dengan acuan kurva pertumbuhan *Escherichia coli* dimana

$$\begin{aligned} 1,337 \text{ absorbansi } R. \text{ pickettii} &\approx 1,337 \times 10^9 \text{ sel/mL kultur} \\ &\approx 1,337 \text{ mg/mL atau } 1,337 \text{ g/L berat} \\ &\quad \text{basah sel} \\ &\approx 0,334 \text{ g/L berat kering sel} \end{aligned}$$

4.2.3 Persiapan Kultur Cair Bakteri *R. pickettii*

Sebanyak satu koloni bakteri *R. pickettii* hasil regenerasi diinokulasikan dengan menggunakan jarum ose ke dalam erlenmeyer yang berisi 10 ml media *nutrient broth* (NB) steril. Pemilihan NB sebagai media cair karena NB mengandung nutrisi yang dibutuhkan oleh bakteri. Kultur *R. pickettii* kemudian dipreinkubasi diatas *rotary shaker* dengan kecepatan 180 rpm selama 30 jam pada suhu 37°C. Proses inkubasi selama 30 jam didasarkan pada hasil kurva pertumbuhan *R. pickettii* yang telah dilakukan sebelumnya dimana pada jam ke 30, bakteri mengalami fase stasioner. Pada fase ini, jumlah sel bakteri yang hidup dengan sel bakteri yang mati seimbang sehingga jumlah keseluruhan bakteri dalam kultur relatif tetap. Selain itu proses produksi enzim dan biosurfaktan mengalami optimalisasi pada fase tersebut.

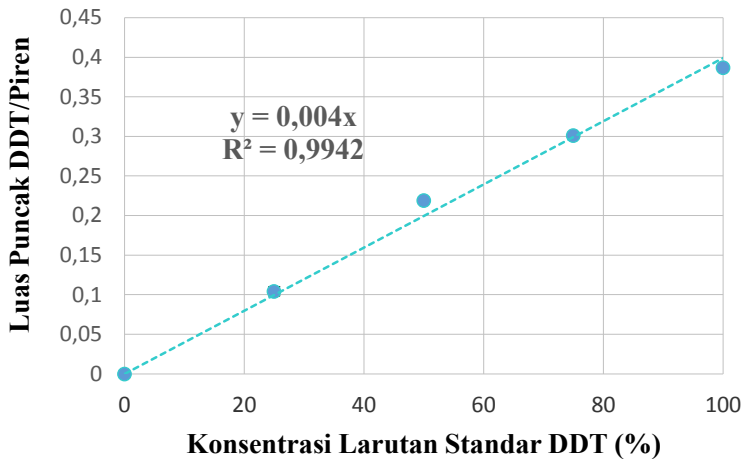
4.3 Kurva Standar DDT

Kurva standar DDT merupakan hasil plot nilai perbandingan luas puncak DDT/piren dan konsentrasi larutan standar. Pembuatan kurva standar dilakukan dengan mengukur luas puncak DDT/piren dengan variasi konsentrasi larutan standar 0; 25; 50; 75 dan 100% (100% = 0,25 μmol DDT yang berasal dari 50 μL DDT 5 mM) menggunakan HPLC dengan fasa gerak metanol 82% dan air 18%. Hasil analisis ditunjukkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Data Kurva Standar DDT

Konsentrasi (%)	Luas Puncak DDT	Luas Puncak Piren	Perbandingan Luas Puncak DDT/Piren	Rata-Rata	SD
0	0	0	0	0	0
	0	0	0		
25	8133,85	81132,80	0,10	0,10	0,006
	8291,78	76696,94	0,11		
50	17689,29	80616,66	0,22	0,22	0,001
	17256,62	79033,15	0,22		
75	24232,41	79892,88	0,30	0,30	0,003
	22970,71	76780,01	0,30		
100	29698,65	76994,95	0,39	0,39	0,002
	28740,36	74100,91	0,39		

Berdasarkan Tabel 4.1 dapat dibuat grafik seperti pada Gambar 4.4 di bawah ini :



Gambar 4.4 Kurva Standar DDT

Dari kurva standar di atas, diperoleh persamaan regresi linear sebagai berikut : $y = 0,004 x$ dimana, x adalah konsentrasi DDT, y adalah perbandingan luas puncak DDT/piren. Persamaan regresi linier ini berfungsi sebagai acuan untuk menentukan konsentrasi DDT dalam sampel. Hubungan antara konsentrasi larutan standar DDT dengan perbandingan luas puncak DDT/piren dapat diketahui dari koefisien korelasi (r). Koefisien korelasi adalah suatu ukuran hubungan antara dua variabel yang memiliki nilai antara -1 dan 1. Jika variabel-variabel keduanya memiliki hubungan linier sempurna, koefisien korelasi itu akan bernilai 1 atau -1. Tanda positif atau negatif bergantung pada apakah variabel-variabel itu memiliki hubungan secara positif atau negatif. Koefisien korelasi bernilai 0 jika tidak ada hubungan yang linier antara variabel. Hasil dari perhitungan diperoleh nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,998, yang menunjukkan bahwa konsentrasi larutan standar DDT dengan perbandingan luas

puncak DDT/piren dari kurva standar memiliki hubungan linear sangat kuat (hampir sempurna).

Hubungan signifikansi antara konsentrasi larutan standar DDT dengan perbandingan luas puncak DDT/piren dan persamaan regresi kurva standar yang digunakan dalam menentukan konsentrasi DDT dalam sampel, dapat diketahui dengan melakukan uji t. Uji t dilakukan dengan tingkat signifikansi $\alpha = 0,05$ (dengan nilai selang kepercayaan 95%). H_0 menyatakan tidak adanya hubungan yang signifikan antara konsentrasi larutan standar DDT dengan perbandingan luas puncak DDT/piren. Sedangkan H_1 menyatakan adanya hubungan yang signifikan antara konsentrasi larutan standar DDT dengan perbandingan luas puncak DDT/piren. Berdasarkan perhitungan pada lampiran 2 diketahui t_{hitung} lebih besar daripada t_{tabel} dengan nilai t_{hitung} sebesar 25,392 dan t_{tabel} sebesar 2,78. sehingga H_0 ditolak dan H_1 diterima yang menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara konsentrasi larutan standar DDT dengan perbandingan luas puncak DDT/piren dan persamaan regresi linier kurva standar dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi DDT dalam sampel.

4.4 Proses dan Hasil Biodegradasi DDT

4.4.1 Biodegradasi DDT oleh *G. lingzhi*

Kultur *G. lingzhi* hasil pre-inkubasi ditambahkan dengan DDT 5 mM yang dilarutkan dalam dimetil sulfoksida (DMSO). DDT harus dilarutkan terlebih dahulu karena DDT merupakan senyawa organik non polar yang memiliki berat jenis yang tinggi, sehingga kelarutannya dalam air relatif kecil. Oleh karena itu diperlukan pelarut aprotik seperti DMSO untuk meningkatkan kelarutan DDT dalam air (Ashari, 2014). Kemudian ditambahkan PDB hingga volume total kultur 20 ml. Tiap erlenmeyer diberi oksigen dan ditutup dengan sumbat kaca serta diselotip menggunakan parafilm. Pemberian oksigen ini berfungsi sebagai suplai oksigen untuk *G. lingzhi* yang merupakan jamur aerobik selama proses degradasi berlangsung. Penutupan dengan sumbat

kaca dan diselotip dengan parafilm berfungsi untuk menghindari terjadinya kontaminasi. Kultur diinkubasi selama 7 hari pada suhu 25°C. Proses inkubasi dapat dilihat pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Proses Inkubasi Sampel Degradasi DDT oleh *G. lingzhi*

Setelah proses inkubasi, dilanjutkan dengan proses *recovery* yang berfungsi untuk mengetahui jumlah DDT yang terdegradasi. Perlakuan pertama pada proses *recovery* yaitu penambahan piren dan metanol yang diletakkan di dasar larutan agar dapat tercampur dengan sempurna. Penambahan piren berfungsi sebagai internal standar untuk menentukan DDT yang hilang selama proses degradasi. Sedangkan penambahan metanol berfungsi untuk menghentikan proses degradasi dan mematikan jamur *G. lingzhi*.

Selanjutnya campuran kultur dipindah dari erlenmeyer ke tabung falcon untuk dihomogenkan untuk membebaskan DDT yang masih terperangkap di dalam miselium jamur. Erlenmeyer tempat campuran kultur dicuci dengan aseton yang merupakan pelarut aprotik sehingga dapat melarutkan senyawa polar dan non polar yang masih tertinggal di dalam erlenmeyer.

Campuran yang telah dihomogenkan, disaring menggunakan kertas saring Whatman dalam corong buchner dan divakum. Setelah miselium tersaring, supernatan ditampung untuk dievaporasi. Sedangkan residu yang terdapat pada kertas

saring dikeringkan dan ditimbang untuk mengetahui berat biomassa. Supernatan dievaporasi pada suhu 64°C hingga untuk menghilangkan aseton dan metanol yang masih berada di dalam supernatan.

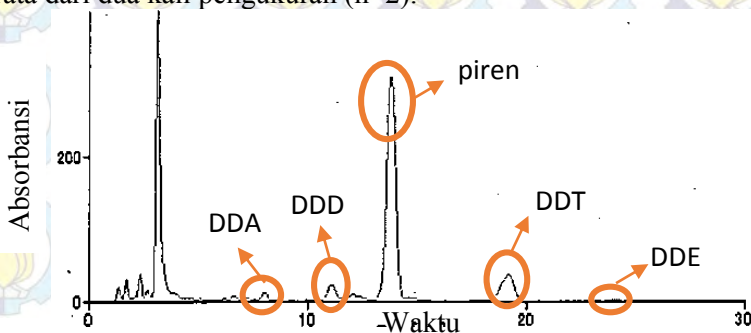
Setelah dievaporasi, campuran kultur diekstraksi dalam corong pisah dengan metode ekstraksi cair-cair. Prinsip dari metode ini adalah perbedaan kelarutan solut (komponen terlarut) dalam solven dan diluen (cairan pembawa). Labu bundar tempat sampel dicuci dengan air dan n-heksana. Pemilihan pasangan pelarut ini berdasarkan syarat-syarat pemilihan pelarut untuk ekstraksi cair-cair yaitu kedua pelarut tidak saling larut, tidak saling bereaksi, memiliki titik didih relatif rendah, tidak bersifat toksik, memiliki perbedaan densitas yang tinggi, tidak bereaksi dengan solut maupun diluen, memiliki perbedaan titik didih yang tinggi dengan solut, pelarut pertama mampu melarutkan diluen dan pelarut kedua mampu melarutkan solut. Air merupakan pelarut polar dan kelarutan DDT dalam air sangat kecil, sedangkan n-heksana merupakan pelarut non polar dan memiliki kemampuan melarutkan DDT. Selanjutnya, supernatan dikocok dengan *shaker* selama 15 menit. Fungsi pengocokan yaitu agar kedua pelarut saling kontak satu sama lain sehingga solut dapat terekstrak ke dalam fasa organik. Setelah proses pengocokan, akan muncul dua fasa yaitu fasa aquos dan fasa organik. Fase aquos dikeluarkan dan dimasukkan ke dalam labu bundar, sedangkan untuk fase organik dikeluarkan dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer.

Fase aquos dalam labu bundar dimasukkan kembali ke dalam corong pisah. Selanjutnya, labu bundar dicuci dengan 20 ml air dan 50 ml n-heksana sebanyak 2 kali. Kemudian dikocok dengan *shaker* selama 15 menit. Fase aquos dan organik yang terbentuk dari proses ekstraksi tersebut dikeluarkan dan ditampung di tempat yang berbeda. Selanjutnya, fase aquos diekstraksi kembali menggunakan corong pisah dengan metode yang sama seperti ekstraksi pertama. Fungsi dilakukan ekstraksi ulang yaitu untuk memaksimalkan hasil *recovery* dan memastikan

bahwa tidak ada DDT dan metabolit produk tertinggal dalam fase aquos. Fase organik yang terbentuk pada ekstraksi kedua ditampung bersamaan dengan hasil fase organik yang terbentuk pada ekstraksi pertama. Fase aquos sudah tidak diperlukan lagi.

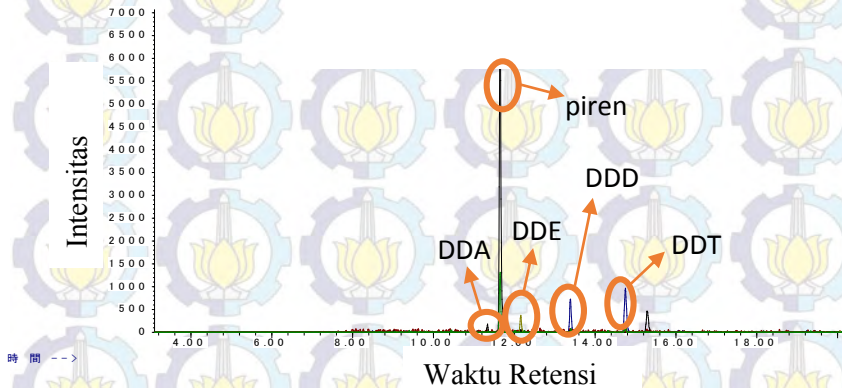
Fase organik hasil ekstraksi disaring menggunakan kapas dan Na_2SO_4 anhidrat yang berfungsi untuk mengikat air yang ditandai dengan Bergeraknya natrium sulfat secara bebas yang menandakan bahwa seluruh air yang terkandung telah terabsorpsi oleh natrium sulfat. Setelah disaring, filtrat dievaporasi kembali pada suhu 67°C . Evaporasi ini berfungsi menguapkan n-heksana yang terkandung di dalam sampel. Selanjutnya, filtrat diambil 2 mL dan dimasukkan ke dalam vial untuk dianalisis menggunakan GC-MS. Kemudian, filtrat yang tersisa dievaporasi kembali sampai kering dan ditambahkan 2 mL metanol. Selanjutnya, filtrat disonik sampai larut dan dimasukkan ke dalam vial untuk dianalisis menggunakan HPLC.

Hasil analisis degradasi DDT oleh *G. lingzhi* menggunakan HPLC diperoleh data persentase DDT pada kultur kontrol dan perlakuan. Pada sampel kontrol, terdeteksi DDT sebesar 96,70%. Pada sampel perlakuan yang telah diinkubasi statis selama 7 hari, diperoleh DDT yang tersisa dalam kultur sebesar 44,18%. Oleh karena itu, diketahui bahwa jamur *G. lingzhi* dapat mendegradasi DDT sebesar 52,52% dengan standar deviasi (SD) 0,68. Data yang diperoleh tersebut merupakan rata-rata dari dua kali pengukuran ($n=2$).



Gambar 4.6 Kromatogram HPLC Jamur *G. lingzhi*

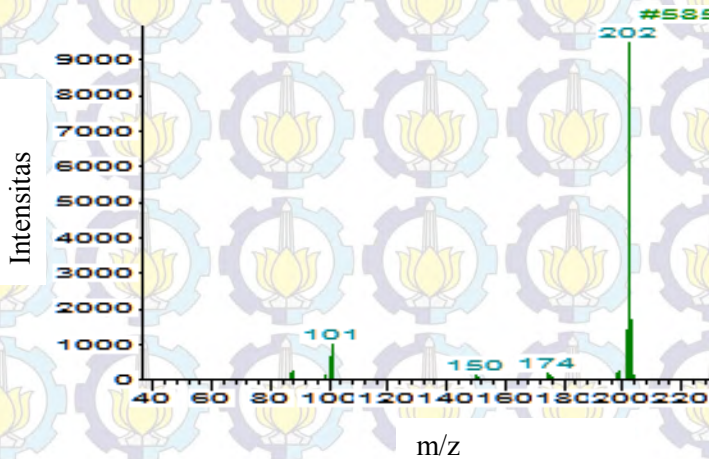
Hasil analisis kromatogram HPLC sampel jamur pada Gambar 4.6 mendeteksi beberapa puncak dimana identifikasi senyawa tersebut akan diperkuat dengan hasil analisis kromatogram GC-MS.



Gambar 4.7 Kromatogram GC Jamur *G. lingzhi*

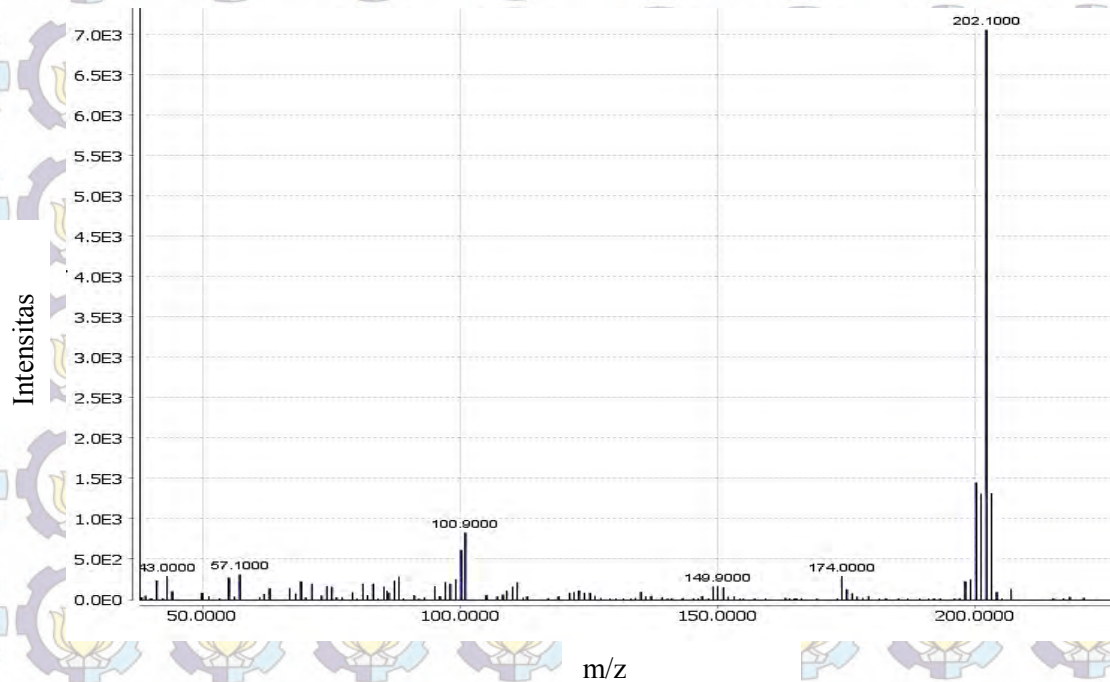
Hasil analisis kromatogram GC sampel jamur pada Gambar 4.7 mendeteksi beberapa senyawa antara lain piren pada waktu retensi 11,7 menit, DDT pada waktu retensi 14,8 menit, DDD pada waktu 13,4 menit, DDE pada waktu retensi 12,2 menit dan DDA pada waktu retensi 10,4 menit. Dari data diatas diketahui bahwa metabolit produk dari degradasi DDT oleh *G. lingzhi* adalah DDD, DDE, dan DDA. Untuk memastikan keakuratan identifikasi senyawa tersebut berupa piren, DDT, DDE, DDD, dan DDA, dilakukan pencocokkan M^+ yang diperoleh pada spektra MS masing-masing senyawa dalam sampel hasil analisis dengan M^+ secara teori dan yang ada dalam database, sehingga dapat diketahui tingkat kemiripannya serta mengurangi potensi kesalahan dalam identifikasi senyawa.

Piren memiliki nilai M^+ sebesar 202. Nilai M^+ ini sesuai dengan spektra MS piren dalam database seperti pada Gambar 4.8 dan spektra MS hasil analisis sampel jamur seperti pada Gambar 4.9.



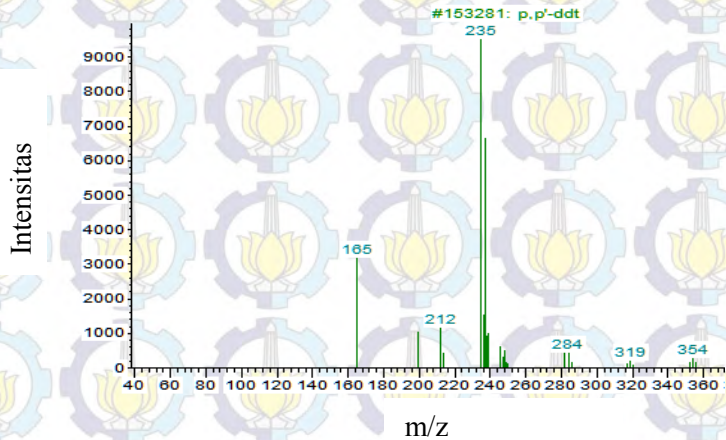
Gambar 4.8 Spektra MS Piren dalam Database

Gambar 4.9 merupakan spektra MS piren hasil analisis sampel jamur memiliki beberapa puncak dengan nilai m/z yang sama dengan spektra MS piren dalam database. Berikut nilai m/z dari beberapa puncak pada spektra MS piren hasil analisis dengan spektra MS dalam database yang sama antara lain: 202 (*base peak*), 174, 150, dan 101.



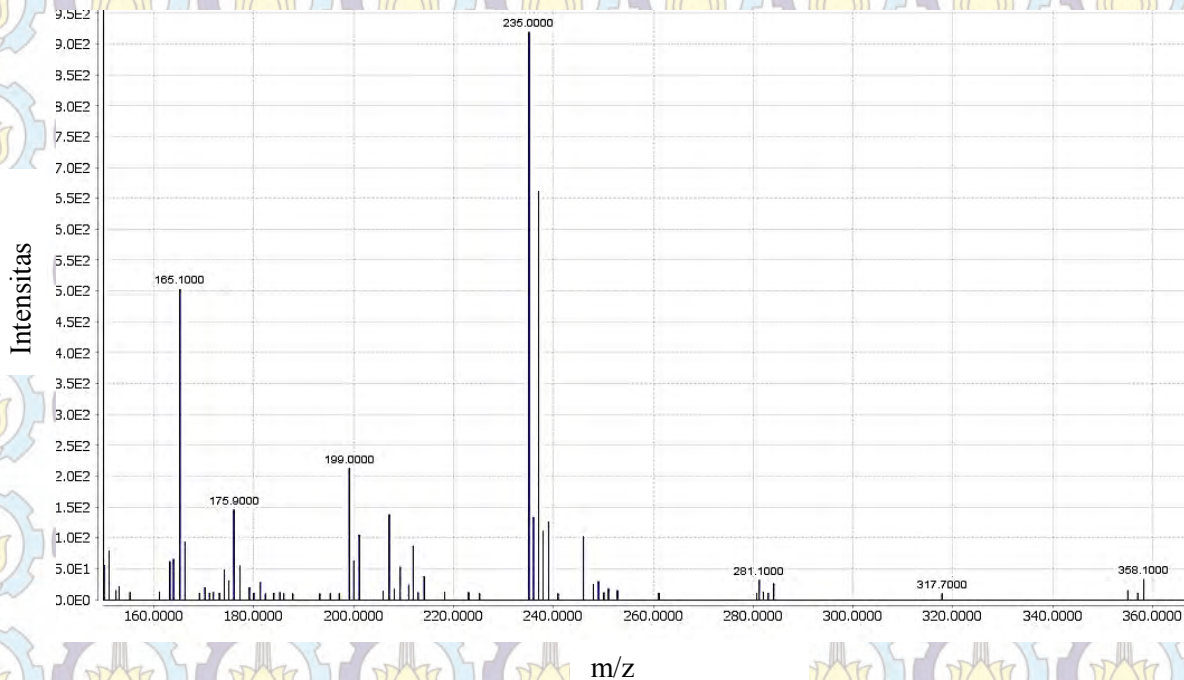
Gambar 4.9 Spektra MS Piren Hasil Analisis Sampel *G. lingzhi*

DDT memiliki nilai M^+ sebesar 352. Nilai M^+ ini sesuai dengan spektra MS DDT dalam database seperti pada Gambar 4.10 dan spektra MS hasil analisis sampel jamur seperti pada Gambar 4.11.



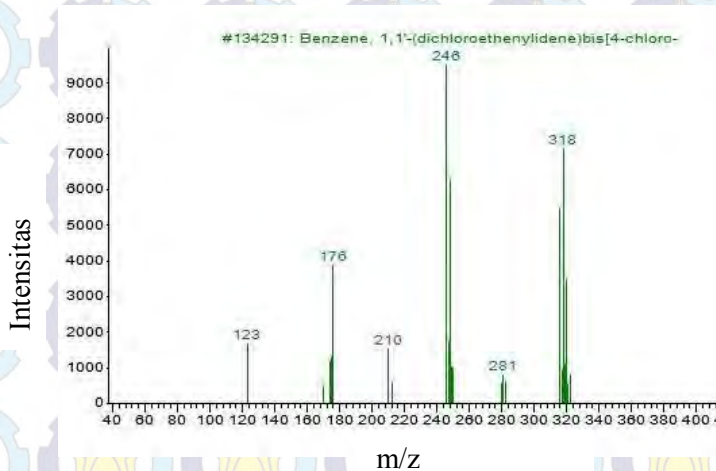
Gambar 4.10 Spektra MS DDT dalam Database

Gambar 4.11 merupakan spektra MS DDT hasil analisis sampel jamur memiliki beberapa puncak dengan nilai m/z yang sama dengan spektra MS DDT dalam database. Berikut nilai m/z dari beberapa puncak pada spektra MS DDT hasil analisis dengan spektra MS dalam database yang sama antara lain: 352, 317, 282, 235 (*base peak*), dan 165.



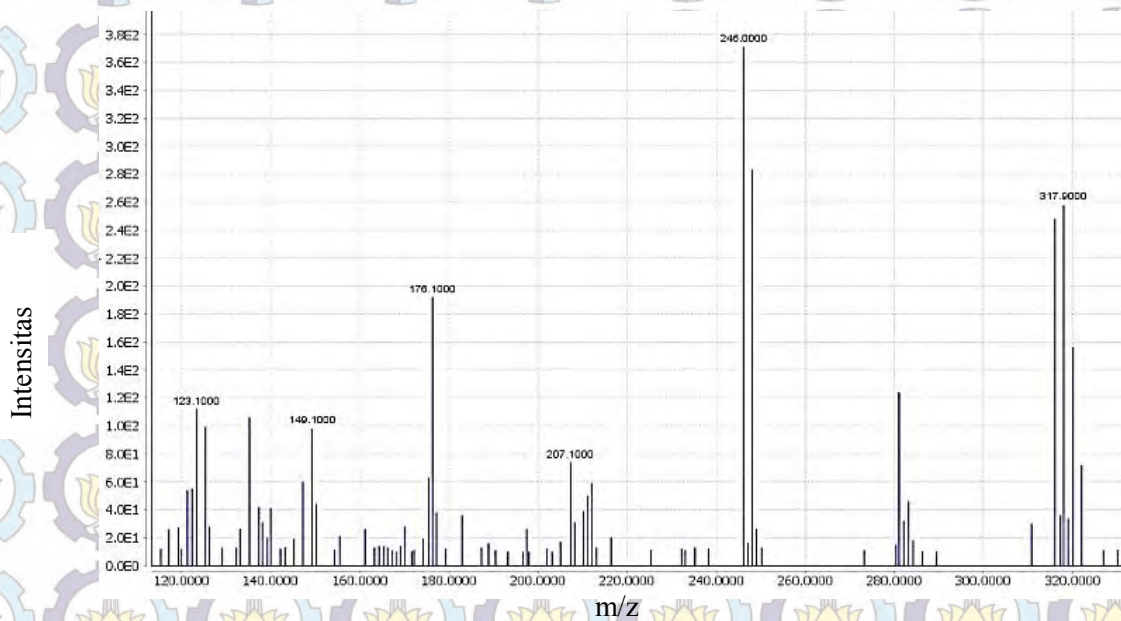
Gambar 4.11 Spektra MS DDT Hasil Analisis Sampel *G. lingzhi*

DDE merupakan senyawa turunan dari DDT yang telah kehilangan 1 atom Cl dan 1 atom H melalui reaksi dehidroklorinasi, maka nilai M^+ DDE sebesar 316. Nilai M^+ ini sesuai dengan spektra MS DDE dalam database seperti pada Gambar 4.12 dan spektra MS hasil analisis sampel jamur seperti pada Gambar 4.13.



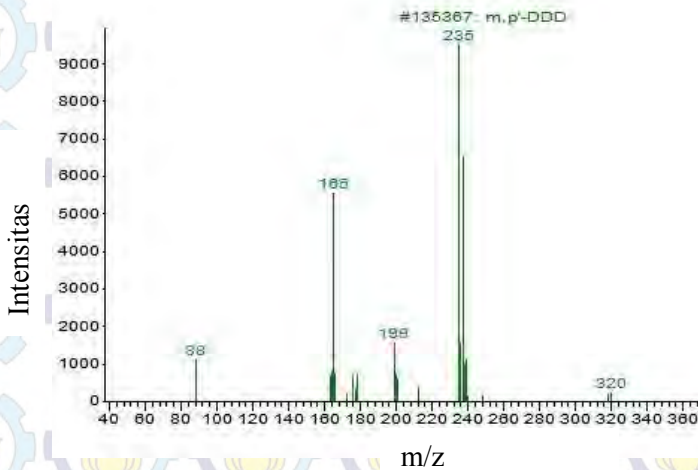
Gambar 4.12 Spektra MS DDE dalam Database

Gambar 4.13 merupakan spektra MS DDE hasil analisis sampel jamur yang memiliki beberapa puncak dengan nilai m/z yang sama dengan spektra MS DDE dalam database. Berikut nilai m/z dari beberapa puncak pada spektra MS DDE hasil analisis dengan spektra MS dalam database yang sama antara lain: 316, 246 (*base peak*), 210, 176, dan 123.



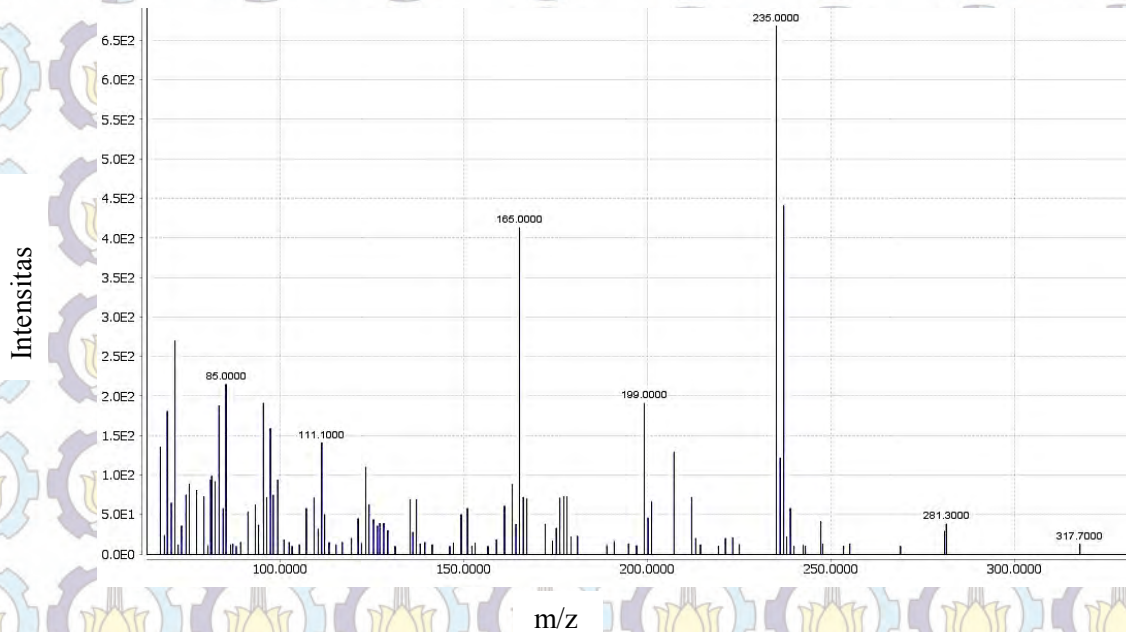
Gambar 4.13 Spektra MS DDE Hasil Analisis Sampel *G. lingzhi*

DDD merupakan senyawa turunan dari DDT yang telah kehilangan 1 atom Cl dan disubstitusi oleh atom hidrogen melalui reaksi deklorinasi, maka nilai M^+ DDD sebesar 318. Nilai M^+ ini sesuai dengan spektra MS DDD dalam database seperti pada Gambar 4.14 dan spektra MS hasil analisis sampel jamur seperti pada Gambar 4.15.



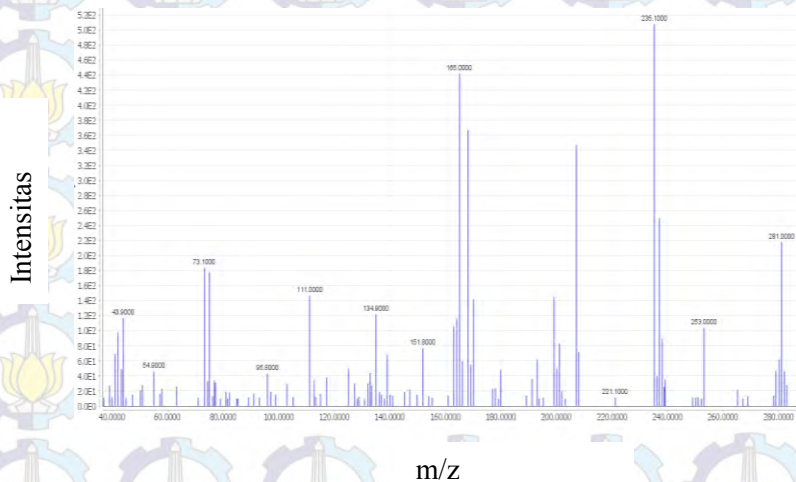
Gambar 4.14 Spektra MS DDD dalam Database

Gambar 4.15 merupakan spektra MS DDD hasil analisis sampel jamur memiliki beberapa puncak dengan nilai m/z yang sama dengan spektra MS DDD dalam database. Berikut nilai m/z dari beberapa puncak pada spektra MS DDD hasil analisis dengan spektra MS dalam database yang sama antara lain: 318, 235 (*base peak*), 199, dan 165.



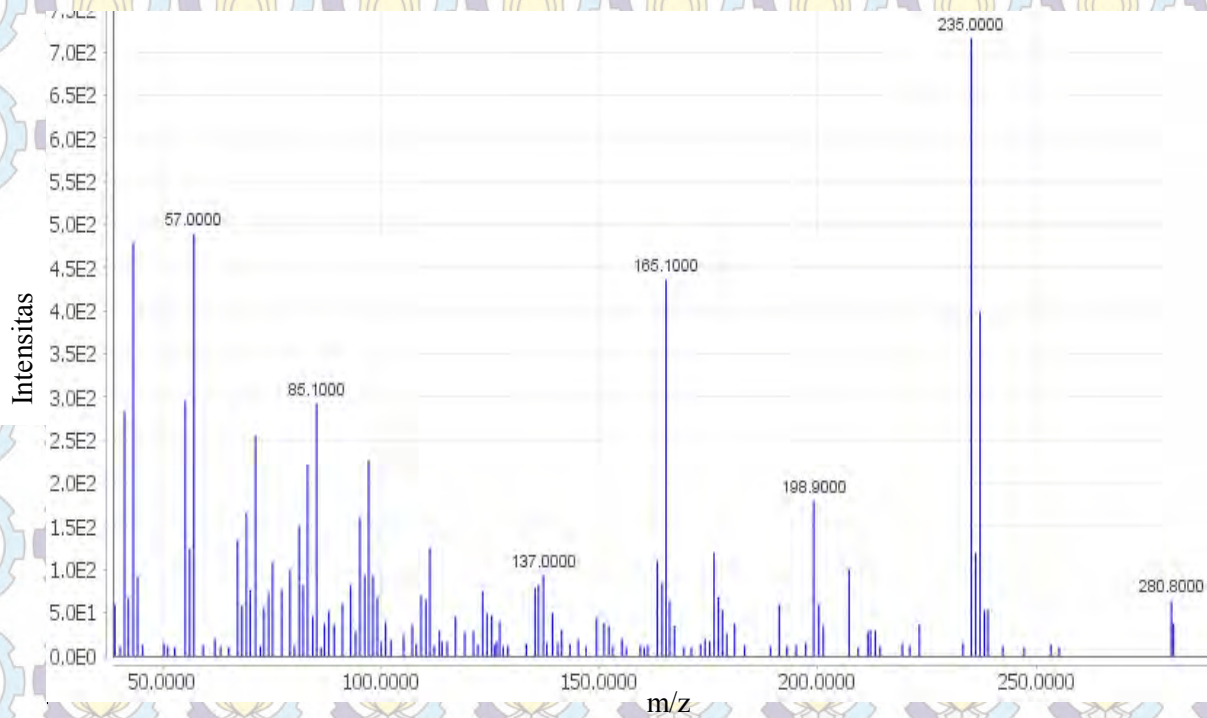
Gambar 4.15 Spektra MS DDD Hasil Analisis Sampel *G. lingzhi*

DDA memiliki nilai M^+ sebesar 281. Nilai M^+ ini sesuai dengan spektra MS DDA dalam database seperti pada Gambar 4.16 dan spektra MS hasil analisis sampel jamur seperti pada Gambar 4.17.



Gambar 4.16 Spektra MS DDA dalam Database

Gambar 4.17 merupakan spektra MS DDA hasil analisis sampel jamur memiliki beberapa puncak dengan nilai m/z yang sama dengan spektra MS DDA dalam database. Berikut nilai m/z dari beberapa puncak pada spektra MS DDA hasil analisis dengan spektra MS dalam database yang sama antara lain: 281, 253, 235 (*base peak*), 207, 165, 111 dan 73.



Gambar 4.17 Spektra MS DDA Hasil Analisis Sampel *G. lingzhi*

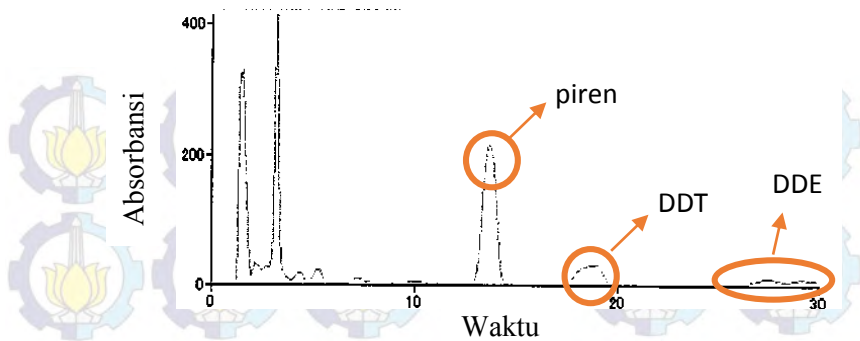
4.4.2 Biodegradasi DDT oleh *R. pickettii*

Kultur bakteri hasil pre-inkubasi selama 30 jam dimasukkan ke dalam PDB dengan variasi penambahan 1, 3, 5, 7 dan 10 mL ($1 \text{ mL} \approx 1,337 \times 10^9$ sel bakteri *R. pickettii*/mL kultur). Kemudian, campuran kultur ditambah dengan PDB kembali hingga volume total 20 mL dan ditambah juga dengan DDT 5mM dalam DMSO (konsentrasi akhir 0,25 mmol DDT/erlenmeyer). Selanjutnya, tiap erlenmeyer diberi oksigen dan ditutup sumbat kaca serta diselotip. Campuran kultur diinkubasi secara statis selama 7 hari pada suhu 25°C. Setelah masa inkubasi selesai, selanjutnya dilakukan proses *recovery* untuk mengetahui DDT yang terdegradasi.

Tabel 4.2 Data Degradasi oleh Bakteri *R. pickettii*

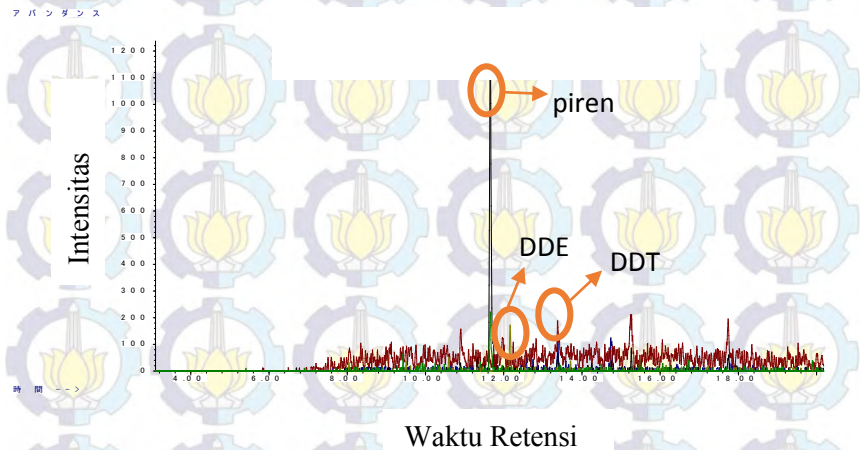
Konsentrasi Bakteri (mL)	Recovery (%)	Degradasi (%)	SD
1	72,76	23,94	4,07
3	84,62	12,08	0,88
5	85,36	11,34	3,80
7	65,83	30,87	0,52
10	76,85	19,85	0,60

Berdasarkan Tabel 4.2, hasil analisis degradasi DDT oleh *R. pickettii* menggunakan HPLC diperoleh data persentase DDT pada kultur kontrol dan perlakuan. Pada sampel kontrol, terdeteksi DDT sebesar 96,70%. Pada sampel perlakuan yang telah diinkubasi statis selama 7 hari, konsentrasi bakteri yang paling maksimal dalam mendegradasi DDT yaitu pada konsentrasi 7 mL dengan *recovery* DDT dalam kultur sebesar 65,83% dimana persentase degradasi DDT sebesar 30,87% dan standar deviasi 0,52. Data yang diperoleh tersebut merupakan rata-rata dari dua kali pengukuran ($n=2$).



Gambar 4.18 Kromatogram HPLC Bakteri *R. pickettii*

Hasil analisis kromatogram HPLC sampel bakteri pada Gambar 4.18 mendeteksi beberapa puncak dimana identifikasi senyawa tersebut akan diperkuat dengan hasil analisis kromatogram GC-MS.

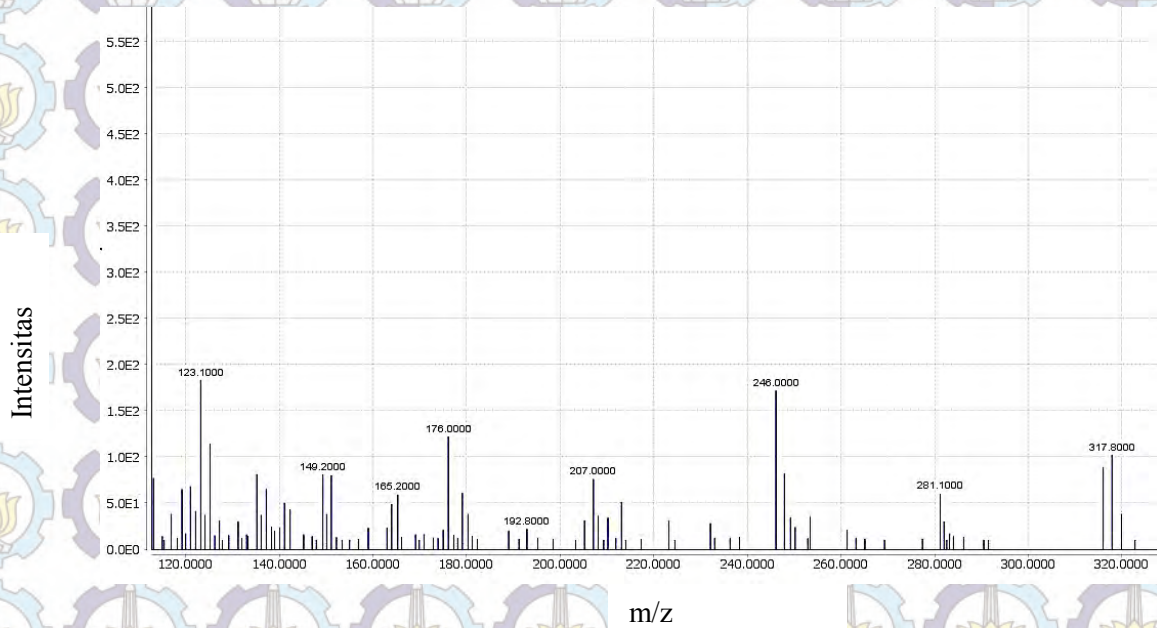


Gambar 4.19 Kromatogram GC Bakteri *R. pickettii*

Hasil analisis kromatogram GC sampel bakteri mendeteksi beberapa senyawa antara lain piren pada waktu

retensi 11,7 menit, DDT pada waktu retensi 14,7 menit, dan DDE pada waktu 12,2 menit. Dari data diatas dapat diketahui bahwa metabolit produk dari degradasi DDT oleh *R. pickettii* adalah DDE. Untuk memastikan keakuratan identifikasi senyawa tersebut berupa DDE, maka dapat dilakukan pencocokkan M^+ yang diperoleh pada spektra MS yang diperoleh dalam sampel dengan M^+ secara teori dan yang ada dalam database. Spektra MS DDE hasil analisis sampel *R. pickettii* sama dengan spektra MS DDE dalam database (lihat gambar 4.12).

Gambar 4.20 merupakan spektra MS DDE hasil analisis sampel bakteri yang memiliki beberapa puncak dengan nilai m/z yang sama dengan spektra MS DDE dalam database. Berikut nilai m/z dari beberapa puncak pada spektra MS DDE hasil analisis dengan spektra MS dalam database yang sama antara lain: 316, 246 (*base peak*), 210, 176, dan 123.



Gambar 4.20 Spektra MS DDE Hasil Analisis Sampel *R. pickettii*

4.4.3 Pengaruh Penambahan *R. pickettii* terhadap Biodegradasi DDT oleh *G. lingzhi*

Kultur jamur *G. lingzhi* hasil pre-inkubasi, ditambah dengan kultur *R. pickettii* dengan variasi penambahan 1, 3, 5, 7, dan 10 mL. Kemudian, masing-masing kultur ditambah PDB hingga volume total 20 mL dan ditambah juga dengan DDT 5 mM dalam DMSO. Selanjutnya, tiap erlenmeyer diberi oksigen dan ditutup sumbat kaca serta diselotip. Campuran kultur diinkubasi secara statis selama 7 hari pada suhu 25°C (gambar 4.21). Setelah masa inkubasi selesai, selanjutnya dilakukan proses *recovery* untuk mengetahui DDT yang terdegradasi.



Gambar 4.21 Proses Inkubasi Sampel Degradasi Campuran (Bakteri dan Jamur)

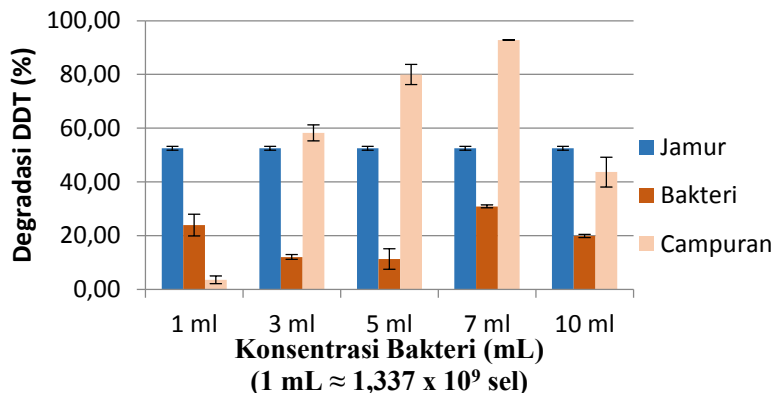
Hasil analisis degradasi DDT oleh *G. lingzhi* dengan penambahan *R. pickettii* menggunakan HPLC diperoleh data persentase DDT pada kultur kontrol dan perlakuan. Pada sampel kontrol, terdeteksi DDT sebesar 96,70%. Pada sampel perlakuan yang telah diinkubasi statis selama 7 hari, konsentrasi sinergi antara bakteri dengan jamur yang dapat berkerja secara maksimal

dalam mendegradasi DDT yaitu pada konsentrasi 7 ml dengan recovery DDT dalam kultur sebesar 3,84 % dan persentase degradasi DDT sebesar 92,85 % serta standar deviasi 0,01. Data yang diperoleh tersebut merupakan rata-rata dari dua kali pengukuran ($n=2$). Hasil analisis degradasi DDT oleh *G. lingzhi* dengan penambahan *R. pickettii* dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Data Degradasi DDT oleh *G. lingzhi* dengan Penambahan Bakteri *R. pickettii*

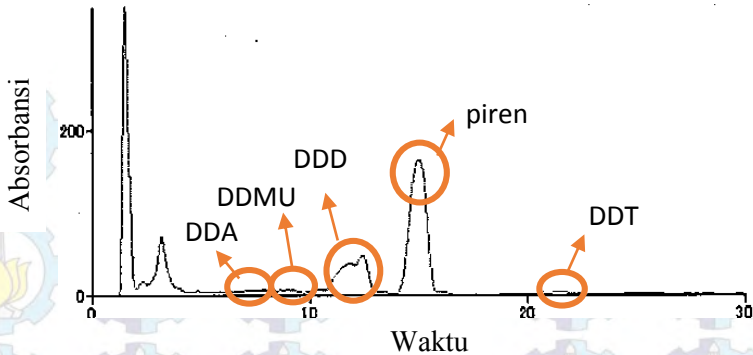
Konsentrasi Bakteri (mL)	Recovery (%)	Degradasi (%)	SD
1	93,09	3,61	1,43
3	38,45	58,25	2,94
5	16,75	79,95	3,74
7	3,84	92,85	0,01
10	53,01	43,69	5,55

Berdasarkan Tabel 4.3 yang digabungkan dengan Tabel 4.2, maka dapat dibuat grafik seperti pada Gambar 4.22.



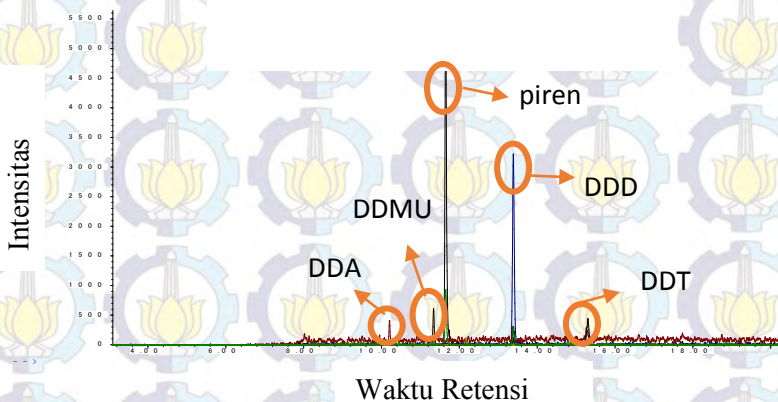
Gambar 4.22 Grafik Degradasi DDT oleh *G. lingzhi* dengan Penambahan Bakteri *R. pickettii*

Berdasarkan gambar 4.22 dapat dilihat perbandingan proses degradasi DDT oleh *G. lingzhi*, *R. pickettii*, dan campuran keduanya. Penambahan *R. pickettii* pada proses degradasi baik *R. pickettii* sendiri maupun campuran dengan *G. lingzhi* menunjukkan bahwa pada penambahan *R. pickettii* 7 mL, proses degradasi dapat berjalan maksimal. Hal ini disebabkan oleh bakteri memproduksi biosurfaktan yang dapat meningkatkan kelarutan DDT dalam media kultur. Biosurfaktan merupakan senyawa aktif permukaan yang mampu menurunkan tegangan permukaan atau tegangan antar muka dua fasa (Abalos dkk., 2001) sehingga DDT mudah terdegradasi. Namun, pada konsentrasi 10 mL terjadi penurunan degradasi karena bakteri yang terdapat dalam kultur terlalu banyak, sehingga terjadi kompetisi antar bakteri dan menyebabkan biosurfaktan yang dihasilkan digunakan sebagai nutrisi untuk bertahan hidup ketika nutrisi dalam kultur habis. Selain itu, biosurfaktan juga memiliki sifat antimikrobal, sehingga dengan semakin banyaknya biosurfaktan akan menghambat aktivitas dari jamur tiram. Banyak penelitian tentang aplikasi biosurfaktan sebagai antimikrobal seperti *P. aeruginosa* yang menghasilkan biosurfaktan rhamnolipid yang terbukti menghambat beberapa mikroorganisme (El-Sheshtawy & Doheim, 2014), *B. cereus* NK1 yang menghasilkan biosurfaktan lipopeptida yang menghambat beberapa infeksi patogenik (Sriram dkk., 2011), biosurfaktan rufisan yang diproduksi oleh *C. lipolytica* UCP0988 mampu menghambat mikroorganisme patogenik dan nonpatogenik (Rufino dkk., 2011), dan *B. licheniformis* TKU004 yang menghasilkan biosurfaktan, sehingga menghambat pertumbuhan mikroba (Chen dkk., 2012). Data yang diperoleh tersebut merupakan rata-rata dari dua kali pengukuran (n=2).



Gambar 4.23 Kromatogram HPLC Campuran *G. lingzhi* dengan *R. pickettii* pada Konsentrasi 7 ml

Hasil analisis kromatogram HPLC sampel campuran bakteri dan jamur pada Gambar 4.23 mendeteksi beberapa puncak dimana identifikasi senyawa tersebut akan diperkuat dengan hasil analisis kromatogram GC-MS.

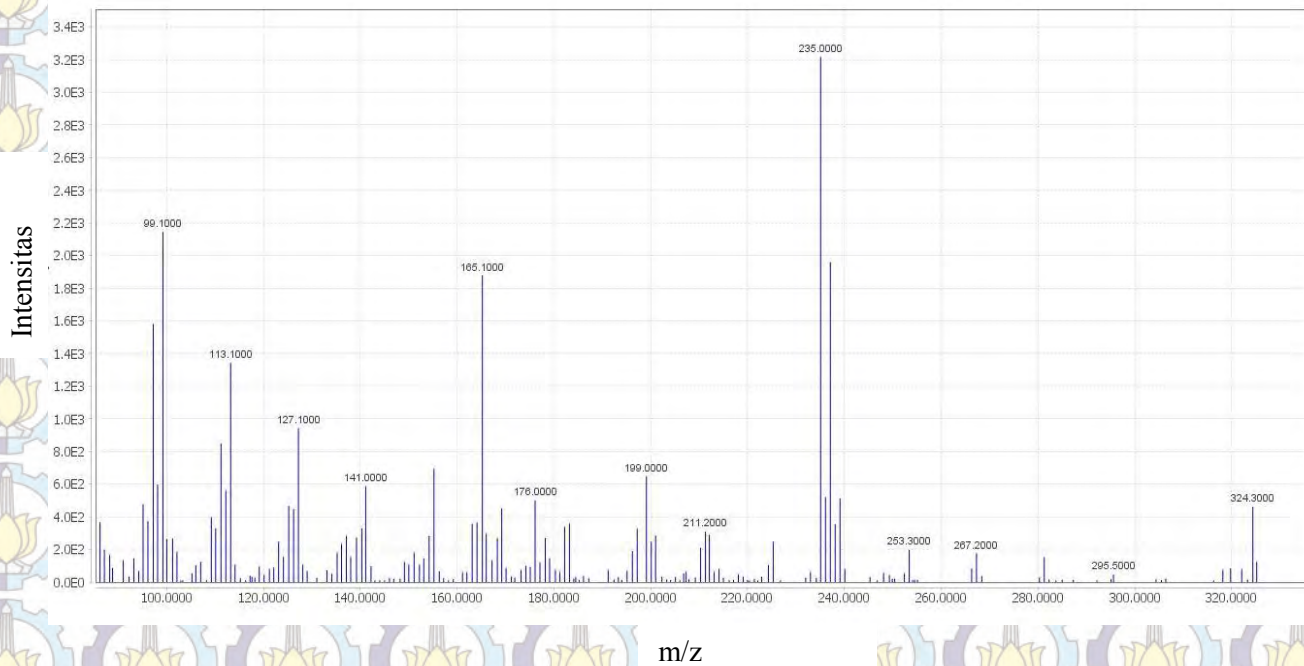


Gambar 4.24 Kromatogram GC Campuran *G. lingzhi* dengan *R. pickettii* pada Konsentrasi 7 ml

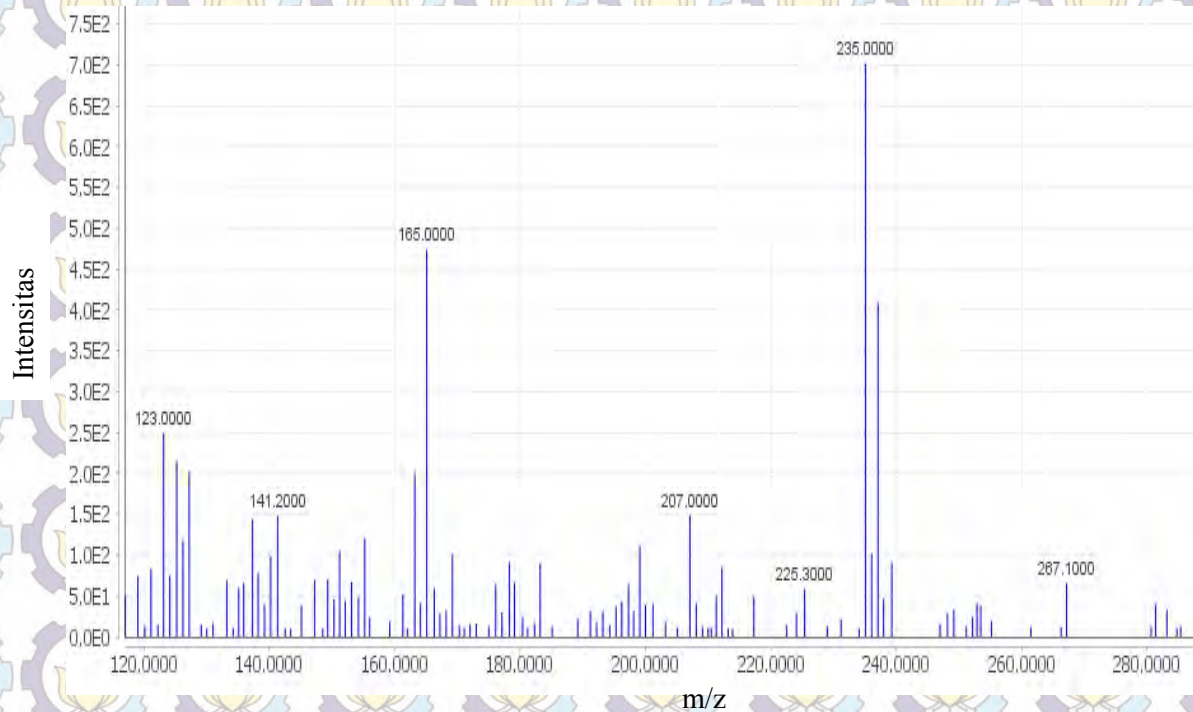
Hasil analisis kromatogram GC sampel campuran bakteri dan jamur (Gambar 4.24) yang diperoleh, mendeteksi beberapa senyawa antara lain piren pada waktu retensi 11,7 menit, DDT pada waktu retensi 14,8 menit, DDD pada waktu 13,4 menit, DDMU pada waktu retensi 11,3 menit, dan DDA pada waktu retensi 10,2 menit. Berdasarkan data tersebut maka metabolit produk degradasi DDT oleh jamur *G. lingzhi* dan bakteri *R. pickettii* adalah DDD, DDMU, dan DDA. Untuk memastikan keakuratan identifikasi senyawa tersebut berupa DDD, DDMU, dan DDA, maka dapat dilakukan pencocokkan M^+ yang diperoleh pada spektra MS yang diperoleh dalam sampel dengan M^+ secara teori dan yang ada dalam database. Spektra MS DDD dan DDA hasil analisis sampel campuran sama dengan spektra MS DDD dan DDA hasil analisis sampel *G. lingzhi* dan sesuai dengan spektra MS DDD dan DDA database (Gambar 4.12 dan 4.14).

Gambar 4.25 merupakan spektra MS DDD hasil analisis sampel campuran jamur dan bakteri yang memiliki beberapa puncak dengan nilai m/z yang sama dengan spektra MS DDD dalam database. Nilai m/z dari beberapa puncak pada spektra MS DDD hasil analisis dengan spektra MS dalam database yang sama antara lain: 318, 235 (*base peak*), 199, dan 165.

Sedangkan Gambar 4.26 merupakan spektra MS DDA hasil analisis sampel campuran jamur dan bakteri yang memiliki beberapa puncak dengan nilai m/z yang sama dengan spektra MS DDA dalam database. Nilai m/z dari beberapa puncak pada spektra MS DDA hasil analisis dengan spektra MS dalam database yang sama antara lain : 281, 253, 235 (*base peak*), 207, 165, 111 dan 73.

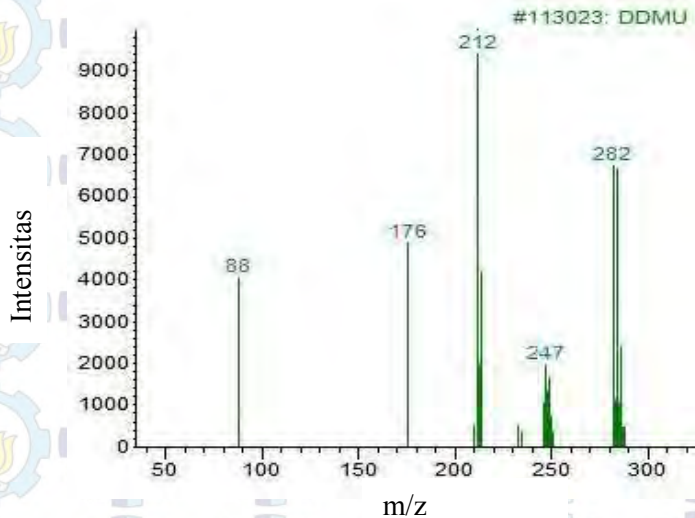


Gambar 4.25 Spektra MS DDD Hasil Analisis Sampel Campuran



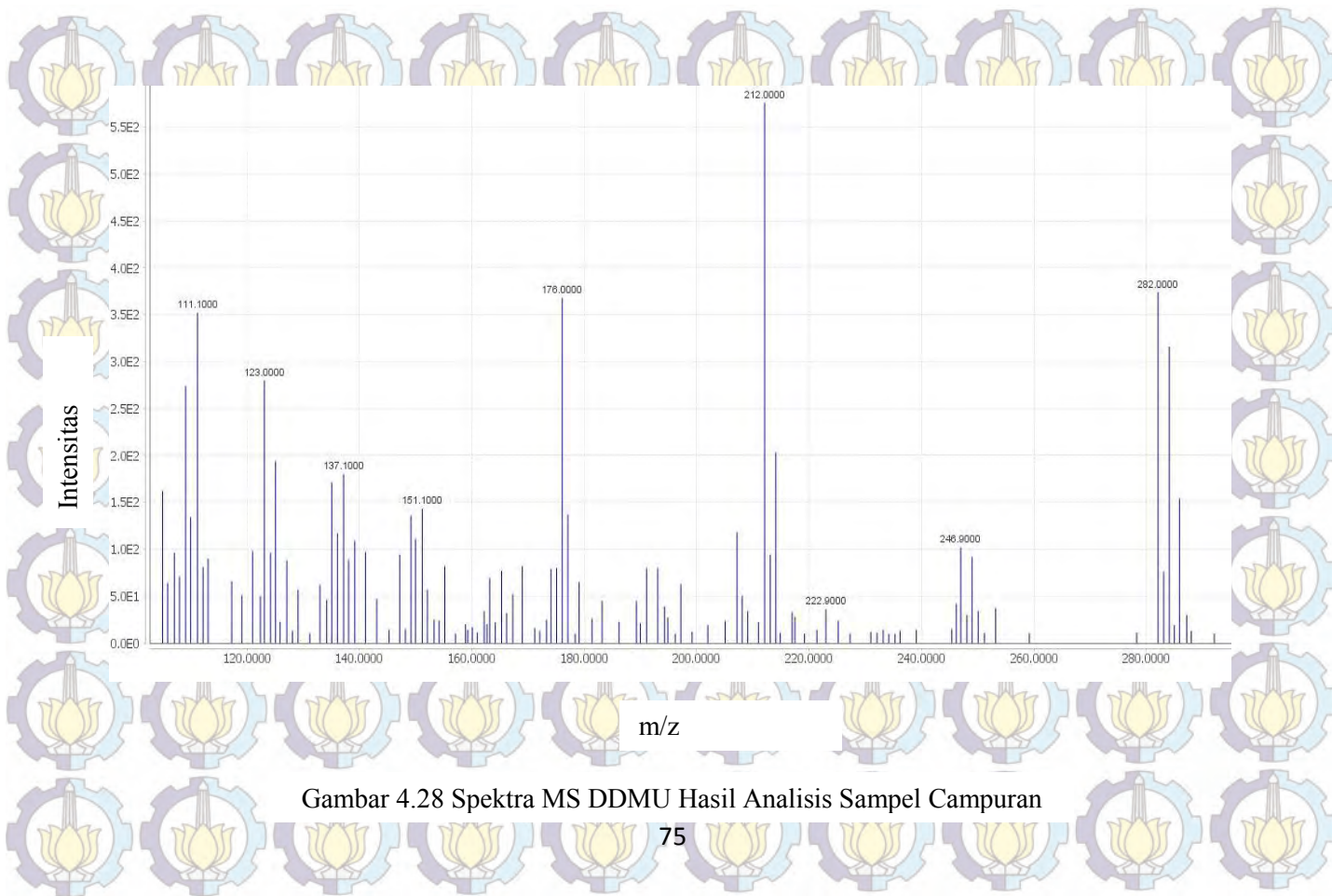
Gambar 4.26 Spektra MS DDA Hasil Analisis Sampel Campuran

DDMU merupakan senyawa turunan dari DDD yang telah kehilangan 1 atom Cl dan 1 atom hidrogen melalui reaksi dehidroklorinasi, maka nilai M^+ DDMU sebesar 282. Nilai M^+ ini sesuai dengan spektra MS DDMU dalam database seperti pada Gambar 4.27 dan spektra MS hasil analisis sampel jamur seperti pada Gambar 4.28.



Gambar 4.27 Spektra MS DDMU dalam Database

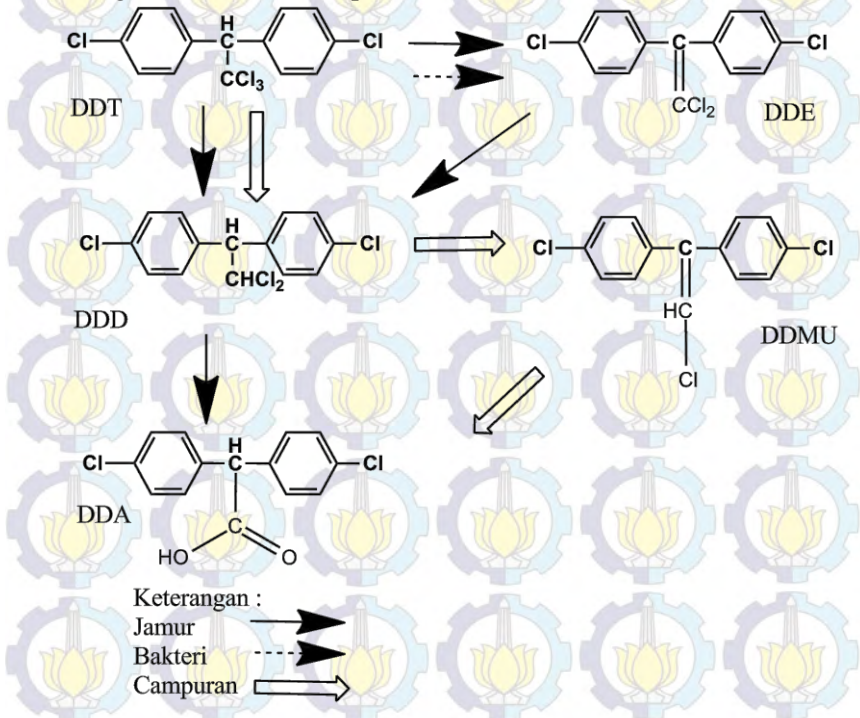
Gambar 4.28 merupakan spektra MS DDMU hasil analisis sampel jamur memiliki beberapa puncak dengan nilai m/z yang sama dengan spektra MS DDMU dalam database. Berikut nilai m/z dari beberapa puncak pada spektra MS DDMU hasil analisis dengan spektra MS dalam database yang sama antara lain: 282, 247, 212 (*base peak*), dan 176.



Gambar 4.28 Spektra MS DDMU Hasil Analisis Sampel Campuran

4.4.4 Jalur Degradasi

Dari data yang diperoleh, dapat dibuat kemungkinan jalur degradasi yang terjadi pada proses degradasi DDT seperti pada Gambar 4.29. Degradasi DDT oleh *G. lingzhi* menghasilkan metabolit produk DDE, DDD dan DDA. Degradasi DDT oleh *R. pickettii* menghasilkan metabolit produk DDE. Sedangkan pada penambahan *R. pickettii* pada degradasi DDT oleh *G. lingzhi* menghasilkan metabolit produk DDD, DDMU, dan DDA.



Gambar 4.29 Jalur Degradasi DDT oleh *G. lingzhi*, *R. pickettii*, dan Campuran Keduanya

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Pada penambahan bakteri *R. pickettii* sebanyak 7 ml dapat mengoptimalkan jumlah degradasi DDT oleh jamur pelapuk putih *G. lingzhi* dengan jumlah degradasi mencapai 92,85% dengan recovery DDT sebesar 3,84%. Degradasi DDT dengan campuran *G. lingzhi* dengan *R. pickettii* lebih besar jika dibandingkan dengan *G. lingzhi* saja dengan perolehan *recovery* DDT sebesar 44,18% dan persentase degradasi sebesar 52,52%
2. Metabolit produk yang dihasilkan pada proses degradasi DDT oleh jamur pelapuk putih *G. lingzhi* dengan penambahan bakteri *R. pickettii* yaitu DDD, DDMU, dan DDA

5.2 Saran

Diharapkan pada penelitian selanjutnya dilakukan karakterisasi yang lebih lengkap untuk mengkonfirmasi metabolit produk yang dihasilkan sehingga dapat menentukan jalur degradasi yang dihasilkan dengan urut dan benar serta mengetahui faktor-faktor lain yang dapat meningkatkan jumlah degradasi seperti suhu, pH dan waktu inkubasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abalos, A. et al., 2001. Physiochemical and Antimicrobial Properties of Rhamnolipid Produced by *Pseudomonas aeruginosa* AT10 from Soybean Oil Refinery Wastes. pp. 1367-1371.
- Akhtar, M. G. S. R. S., 1998. *Overview of Biomechanical and Biochemical Pulping Research : Enzyme Applications in Fiber Processing*. Washington, DC: American Chemical Society.
- Ashari, K., 2014. *Pengaruh Penambahan Pseudomonas aeruginosa terhadap Biodegradasi DDT oleh Pleurotus ostreatus*. Surabaya: FMIPA ITS.
- Bhatti, H. N., Bibi, I. & Asgher, M., 2008. Decolorization of Direct Dyes with Manganese Peroxide from White-Rot Basidiomycete *Ganoderma lucidum* IBL-05. *Journal of Biotechnology*, pp. 357.
- Bimbi, M., 2012. *Tepung Sagu Sebagai Pemadat Media Kultur untuk Bakteri*. Semarang: Univeristas Muhammadiyah Semarang.
- Blanchette, R. & Burnes, T., 1988. Selection of White Rot Fungi for Biopulping. *Biomass*, pp. 93-101.
- Bumpus, J. A., Focht, J., Alexander, M. & Aust, S. D., 1987. Biodegradasi Dikloro Difenil Trikloroetan oleh Fungi *Phanerochaete chrysosporium*.
- Chen, Y.-C. et al., 2012. Reclamation of Squid pen by *Bacillus licheniformis* TKU004 for The Production of Thermally Stable and Antimicrobial Biosurfactant. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, pp. 62-69.
- Crawford, R. & Crawford, D., 1996. *Bioremediation: Principles and Applications*. s.l.:Cambridge University Press.

- Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI, 1996. *Daftar Komposisi Bahan Makanan*. Jakarta: Bhatara.
- Djarajah, N. & Djarajah, A., 2001. *Budidaya Jamur Tiram*. Yogyakarta
- Djojsumarto, P., 2006. *Pestisida dan Aplikasinya*. Jakarta: Agromedia.
- D'souza, T., Merritt, C. & Reddy, A., 1999. Lignin-Modifying Enzymes of The White Rot Basidiomycete *Ganoderma Lucidum*. *Applied and Environmental Microbiology*, pp. 5307-5313.
- El-Sheshtawy, H. & Doheim, M., 2014. Selection of *Pseudomonas aeruginosa* for Biosurfactant Production and Studies of Its Antimicrobial Activity. *Egyptian Journal of Petroleum*, pp. 1-6.
- Eris, F. R., 2006. *Pengembangan Teknik Bioremediasi dengan Slurry Bioreaktor untuk Tanah Tercemar Minyak Diesel (Thesis)*. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Eweis, J., Ergas, S., Chang, D. & Schroeder, E., 1998. *Bioremediation Principles*. Singapore: WCB McGraw-Hill.
- Griffin, D., 1994. *Fungal Physiology 2nd Ed*. New York: Wiley-Liss, Inc.
- Hardiani, d., 2011. Bioremediasi Logam Timbal (Pb) dalam Tanah Terkontaminasi Limbah Sludge Industri Kertas Proses Deinking. *Jurnal Selulosa*, pp. 31-41.
- Huang, Y. & Wang, J., 2013. Degradation and Mineralization of DDT by The Ectomycorrhizal fungi, *Xerocomus chrysenteron*. *Chemosphere*, pp. 760-764.
- John, A. B. J. F. D. A. M. S. D., 1995. Biodegradasi Dikloro Difenil Trikloroetan oleh Fungi *Phanerochaete chrysosporium*. *Applied and Environmental Microbiology*.
- Khopkar, S., 1998. *Basic Concepts of Analytical Chemistry (2nd ed.)*. New Delhi: New Age International (P) Ltd.

- Kusnadi, Ammi, S. & Yanti, S., 2012. *Standar Praktik Mikrobiologi*. [Online] Available at: <http://www.id.scribd.com/doc/88706929/pembuatan-media-pembiakan-mikroba>
- Laddha, G. & Degaleesan, T., 1976. Transport Phenomenon in Liquid Extraction. pp. 131-145.
- Mahiuddin, M. A. F. & A.-A.-M., 2012. DEgradation of Phenol via Meta Cleavage Pathway by *Pseudomonas Fluorescens*. *ISRN Microbiology*.
- Marlinasari, D., 2008. Kemampuan JAMur Ligninolitik dalam Mendegradasi Insektisida Organofosfat Diazinon.
- Martunus & Helwani, 2005. Ekstraksi Senyawa Aromatis dari Heavy Gas Oil (HGO) dengan Pelarut Trietilen Glikol (TEG). *Jurnal Sains Teknologi*, pp. 34-37.
- Murugesan, K., Nam, I.-H., Kim, Y.-M. & Chang, Y.-S., 2007. Decolorization of Reactive Dyes by A Thermostable Laccase Produced by *Ganoderma Lucidum* in Solid State Culture. *Enzyme and Microbial Technology*, pp. 1662-1672.
- Palar, H., 1994. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Purnomo, A. S. et al., 2010. Application of Mushroom Waste Medium from *Pleurotus ostreatus* for Bioremediation of DDT-Contaminated Soil. *International Biodeterioration and Biodegradation*, pp. 397-402.
- Purwoko, T., 2007. *Fisiologi Mikroba*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Qu, J. et al., 2015. Novel *Chryseobacterium* sp. PYR2 Degrades Various Organochlorine Pesticides (OCPs) and Achieves Enhancing Removal and Complete Degradation of DDT in Highly Contaminated Soil. *Journal of Environmental Management*, pp. 350-357.
- Rufino, R. et al., 2011. Antimicrobial and Anti-Adhesive Potential of A Biosurfactant Rufisan Produced by *Candida*

- lipolytica UCP 0988. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, pp. 1-5.
- Ruqayyah, et al., 2015. Bioconversion of Seaweed with White Rot Fungi for Production of Protein Enriched Fish Feedstock. *Jurnal Teknologi*, pp. 1-6.
- Ryan, M. P. J. & A. C., 2007. *Ralstonia pickettii* in Environmental Biotechnology : Potential and Applications. *Journal Applied of Microbiology*, pp. 103 (4), 54-64.
- Ryan, M. P., Pembroke, J. & Adley, C. C., 2011. Genotypic and Phenotypic Diversity of *Ralstonia pickettii* and *Ralstonia insidiosa* Isolates from Clinical and Environmental Sources Including High-Purity Water. Diversity in *Ralstonia pickettii*. *BMC Microbiology*, pp. 11:194.
- Sanches, C., 2009. Lignocellulosics Residues : Biodegradation and Bioconversion by Fungi. *Biotechnol Advan*, pp. 185-194.
- Sastrodihardjo, 1979. *Pengantar Entomologi Terapan*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Sigmaaldrich, 2010. *Nutrient Agar*. [Online] Available at: <http://www.sigmaaldrich.com>
- Silverstein, R., 2005. *Spectrometric Identification of Organic Compounds 7th ED*. USA: John Wiley and Sons, Inc.
- Skoog, D. A., Holler, F. & Crouch, R., 1998. *Principle Analysis*. USA: Saunders College Publishing.
- Sriram, M. I. et al., 2011. Biofilm Inhibition and Antimicrobial Action of Lipopeptide Biosurfactant Produced by Heavy Metal Tolerant Strain *Bacillus cereus* NK1. *Colloids and Surfaces B : Biointerfaces*, pp. 174-181.
- Sudaryanto, A., Takahashi, S. & Tanabe, S., 2007. Persistent Toxic Substances in the Environment of Indonesia. *Development in Environmental Sciences*, volume 7, pp. 587-627.

- Suhenry, M. d., 2011. *Kinetika Pertumbuhan Sel Sacharomyces cerevisiae dalam Media Tepung Kulit Pisang*. Yogyakarta: Universitas Pembangunan Nasional.
- Sumarsih, S., 2003. *Mikrobiologi Dasar*. Yogyakarta: Fakultas Pertanian UPN Veteran.
- Sunardi, 2006. *Penuntun Praktikum Kimia Analisa Instrumen*. Depok: Departemen Kimia FMIPA UI.
- Sun, Y. a. C. J., 2002. Hydrolysis of Lignicellulosic Materials for Ethanol Production : A Review. *Bio Resource Technology*, pp. 1-11.
- Suriawiria, 2001. *Budidaya Ling Zhi dan Maitake Jamur Berkhasiat Obat*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Surtikanti, H., 2011. *Toksikologi Lingkungan dan Metode Uji Hayati*. Bandung: Rizqi press.
- Sutarma, 2000. *Kultur Media Bakteri*. Bogor: Balai Penelitian Veteriner.
- Tarumingkeng, R., 2007. *DDT dan Permasalahannya di Abad 21*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Tarumingkeng, R. C., 1989. *Pengantar Toksikologi Insektisida*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Ting, W., Yuan, S., Wu, S. & Chang, B., 2011. Biodegradation of Phenanthrene and Pyrene by *Ganoderma lucidum*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, pp. 238-242.
- Tortora, G. J., Funke, B. R. & Case, C. L., 2010. *Microbiology : An Introduction*.
- UNIDO, 1984. *Indonesia : Consultation on Research and Development for Pesticide Production in Indonesia. Technical Report. United Nations Industrial Development Organization, Vienna*, pp. 42.
- Volk, W. A. & Margaret F, W., 1993. *Mikrobiologi Dasar. Jilid 1. Edisi kelima*. Jakarta: Erlangga.

Walter, M., 1997. *Bioaugmentation*. CJ Hurst (Eds). *Manual of Environmental Microbiology*. Washington DC: ASM Press.

WHO, 1979. *Environmental Health*. [Online]
Available at:
<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc009.htm>

Wilson, K. a. W. M., 2002. *Development of Biotechnology*.
[Online] Available at:
<http://www.hortresearch.co.nz/files/2002/bioreman-wasteminz.pdf>

Wolfaardt, F. J. T. A. J. M. C. R., 2004. Assesment of Wood-Inhabiting Basidiomycetes for Biokraft Pulping of Softwood Chips. *Bioresource Technology*, pp. 25-30.

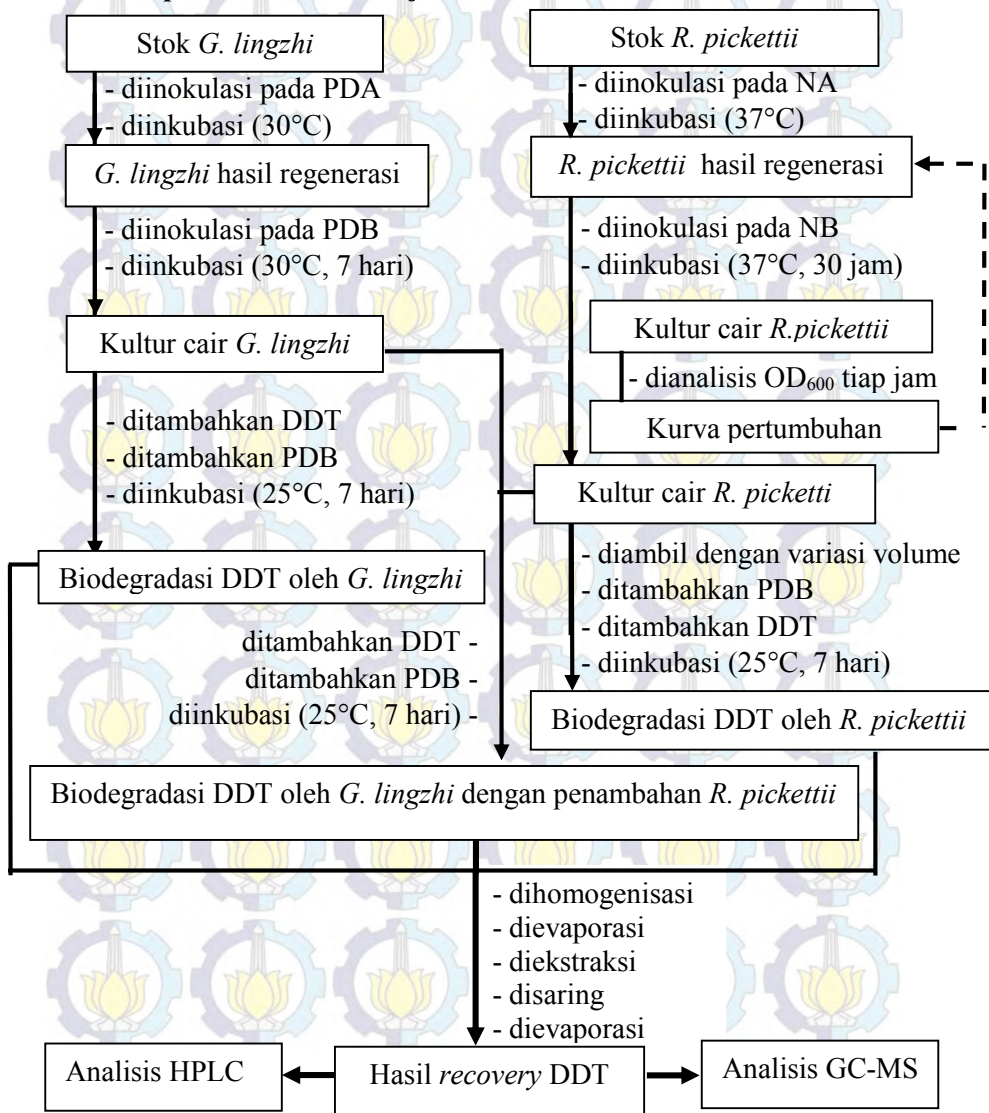
Wudianto, R., 1997. *Petunjuk Penggunaan Pestisida*. Jakarta: PT. Penebar Swadaya.

Yabuuchi, E. et al., 1995. Transfer of Two Burkholderia and an Alcaligenes Species to Ralstonia gen-nov-proposal of R. pickettii, R. doudoroff, R. solanacearum, and R. eutropha. *Microbiol. Immunol*, pp. 879-904.

Yuantari, M., 2011. *Dampak Pestisida Organoklorin terhadap Kesehatan Manusia dan Lingkungan Serta Penangulannya*. Semarang

LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Kerja



Lampiran 2. Perhitungan

1. Pembuatan Larutan DDT 5 mM dalam 50 ml DMSO

$$\begin{aligned} n &= M \cdot V \\ &= 5 \times 10^{-3} \text{ M} \cdot 0,05 \text{ L} \\ &= 2,5 \times 10^{-4} \text{ mol} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Massa} &= n \cdot M_r \\ &= 2,5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot 354,49 \text{ g/mol} \\ &= 0,0886225 \text{ g DDT} \end{aligned}$$

2. Pembuatan Larutan Piren 5 mM dalam 50 ml DMSO

$$\begin{aligned} n &= M \cdot V \\ &= 5 \times 10^{-3} \text{ M} \cdot 0,05 \text{ L} \\ &= 2,5 \times 10^{-4} \text{ mol} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Massa} &= n \cdot M_r \\ &= 2,5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot 202,25 \text{ g/mol} \\ &= 0,0505625 \text{ g Piren} \end{aligned}$$

3. Uji Signifikansi Koefisien Korelasi (Uji t)

X_i	Y_i	$(X_i - \bar{X})$	$(X_i - \bar{X})^2$	$(Y_i - \bar{Y})$	$(Y_i - \bar{Y})^2$	$\frac{(X_i - \bar{X})}{(Y_i - \bar{Y})}$
0	0	-50	2500	-0,202	0,041	10,11
25	0,104	-25	625	-0,987	0,009	2,46
50	0,219	0	0	0,017	0,000	0
75	0,301	25	625	0,099	0,009	2,47
100	0,387	50	2500	0,185	0,034	9,24
$\bar{X} = 50$	$\bar{Y} = 0,202$		$\Sigma = 6250$		$\Sigma = 0,095$	$\Sigma = 24,28$

$$r = \frac{\sum[(X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})]}{\sqrt{\sum[(X_i - \bar{X})^2(Y_i - \bar{Y})^2]}}$$

$$= \frac{24,275}{\sqrt{(6250)(0,095)}}$$

$$= 0,998$$

$$t_{hitung} = \frac{r\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}$$

$$= \frac{0,998\sqrt{5-2}}{\sqrt{1-0,998^2}}$$

$$= 25,392 \text{ (} t_{tabel} = 2,78 \text{)}$$

H_0 diterima, jika $t_{hitung} < t_{tabel}$

H_0 ditolak, jika $t_{hitung} > t_{tabel}$

Karena $t_{hitung} > t_{tabel}$, maka H_0 ditolak

Tabel t (Titik Persentase Distribusi t (df = 1-15))

Pr	0.25	0.10	0.05	0.025	0.01	0.005	0.001
df	0.50	0.20	0.10	0.050	0.02	0.010	0.002
1	1.00000	3.07768	6.31375	12.70620	31.82052	63.65674	318.30884
2	0.81650	1.88562	2.91999	4.30265	6.96456	9.92484	22.32712
3	0.76489	1.63774	2.35336	3.18245	4.54070	5.84091	10.21453
4	0.74070	1.53321	2.13185	2.77645	3.74695	4.60409	7.17318
5	0.72669	1.47588	2.01505	2.57058	3.36493	4.03214	5.89343
6	0.71756	1.43976	1.94318	2.44691	3.14267	3.70743	5.20763
7	0.71114	1.41492	1.89458	2.36462	2.99795	3.49948	4.78529
8	0.70639	1.39682	1.85955	2.30600	2.89646	3.35539	4.50079
9	0.70272	1.38303	1.83311	2.26216	2.82144	3.24984	4.29681
10	0.69981	1.37218	1.81246	2.22814	2.76377	3.16927	4.14370
11	0.69745	1.36343	1.79588	2.20099	2.71808	3.10581	4.02470
12	0.69548	1.35622	1.78229	2.17881	2.68100	3.05454	3.92963
13	0.69383	1.35017	1.77093	2.16037	2.65031	3.01228	3.85198
14	0.69242	1.34503	1.76131	2.14479	2.62449	2.97684	3.78739
15	0.69120	1.34061	1.75305	2.13145	2.60248	2.94671	3.73283

4. Contoh Perhitungan Persen *Recovery*

Data analisis sampel kontrol (bakteri 1 mL)

Luas Puncak Piren	Luas Puncak DDT	Perbandingan Luas Puncak DDT/Piren	<i>Recovery</i>
5684,99	2139,81	0,3764 (0,38)	94,10
5846,27	2153,19	0,3683 (0,37)	92,08

*Analisis menggunakan HPLC

Persamaan regresi linear kurva standar DDT

$$y = 0,004 x$$

$$0,3764 = 0,004 x$$

$$x = \frac{0,3764}{0,004}$$

$$x = 94,10 \%$$

Dimana : y = Perbandingan luas area puncak DDT/piren

x = Persen *recovery*

Lampiran 3. Data Analisis Sampel

Tabel 1. Data Analisis Sampel pada Jamur *G. lingzhi*

Kons. Bakteri (mL)	N	Piren	DDT	DDT/Piren	Recovery	Rata-rata	SD	Degradasi
0	C1	76994,95	29698,65	0,39	96,43	96,70	0,38	-
	C2	74100,91	28740,36	0,39	96,96			
1	T1	7993,82	1397,14	0,17	43,69	44,18	0,68	52,52
	T2	3598,65	642,84	0,18	44,66			

Tabel 2. Data Analisis Sampel pada Bakteri *R. pickettii*

Kons. Bakteri (mL)	n	Piren	DDT	DDT/Piren	Recovery	Rata-rata	SD	Degradasi
0	C1	76994,95	29698,65	0,39	96,43	96,70	0,38	-
	C2	74100,91	28740,36	0,39	96,96			
1	T1	15021,45	4198,8	0,28	69,88	72,76	4,07	23,94
	T2	15374,11	4651,54	0,30	75,64			
3	T1	14776,09	4964,6	0,34	84,00	84,62	0,88	12,08
	T2	14919,79	5087,19	0,34	85,24			
5	T1	8210,44	2715,12	0,33	82,67	85,36	3,80	11,34
	T2	8707,32	3066,57	0,35	88,05			
7	T1	8936,46	2366,16	0,26	66,19	65,83	0,52	30,87
	T2	8991,7	2354,26	0,26	65,46			
10	T1	9762,26	3017,55	0,31	77,28	76,85	0,60	19,85
	T2	7937,07	2426,63	0,31	76,43			

Tabel 3. Data Analisis Sampel pada Campuran Bakteri *R. pickettii* dengan Jamur *G. lingzhi*

Kons. Bakteri (mL)	N	Piren	DDT	DDT/Piren	Recovery	Rata-rata	SD	Degradasi
0	C1	76994,95	29698,65	0,39	96,43	96,70	0,38	-
	C2	74100,91	28740,36	0,39	96,96			
1	T1	5684,99	2139,81	0,38	94,10	93,09	1,43	3,61
	T2	5846,27	2153,19	0,37	92,08			
3	T1	5565,56	809,58	0,15	36,37	38,45	2,94	58,25
	T2	5093,37	825,71	0,16	40,53			
5	T1	7230,84	407,95	0,06	14,10	16,75	3,74	79,95
	T2	9092,92	705,41	0,08	19,39			
7	T1	8092,86	124,78	0,02	3,85	3,84	0,01	92,85
	T2	7122,12	109,23	0,02	3,83			
10	T1	8852,57	1737,99	0,20	49,08	53,01	5,55	43,69
	T2	8975,68	2044,17	0,23	56,94			

BIODATA PENULIS



Penulis bernama Eka Pratiwi Yuniarti. Penulis yang dilahirkan di Surabaya, 04 Juni 1994 ini merupakan anak pertama dari dua bersaudara. Penulis telah menempuh pendidikan formal yaitu di TK Teladan Pertiwi Surabaya (1997-2000), SD Al-Falah Surabaya (2000-2006), SMP Muhammadiyah 5 Surabaya (2006-2009), dan SMA Trimurti Surabaya (2009-2012). Penulis melanjutkan jenjang pendidikan S1 di Jurusan Kimia FMIPA melalui jalur SNMPTN mandiri dan terdaftar dengan

Nomor Registrasi Pokok (NRP) 1412100101. Pada tahun kedua penulis pernah menjadi staff Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMKA) pada divisi Chemistry Week. Penulis pernah menjalani kerja praktik di PT. Merck Sharp Dohme (MSD) Pharma Tbk. Pandaan. Selama kerja praktik, penulis ditempatkan di laboratorium *Quality Control* (QC). Penulis menyelesaikan program Sarjana dengan mengambil tugas akhir di bidang Kimia Mikroorganisme dibawah bimbingan Adi Setyo Purnomo, M.Sc, Ph.D. dan Drs. Refdinal Nawfa, MS. Penulis dapat dihubungi melalui ekaputranto18@gmail.com.